Aus dem Zahnärztlichen Institut der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. Dr. E. Fröhlich
Abteilung für physikalische Chemie und Werkstoffkunde
Leiter: Professor Dr. A. Knappwost

Bakteriologische Untersuchungen zur Stiftelement-Ionophorese

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnheilkunde
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Eberhard - Karls - Universität
zu Tübingen

vorgelegt

von

Gisela Fritz
aus Mönchengladbach

1957

7113

Aus dem Zahnärztlichen Institut der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. Dr. E. Fröhlich
Abteilung für physikalische Chemie und Werkstoffkunde
Leiter: Professor Dr. A. Knappwost

Bakteriologische Untersuchungen zur Stiftelement-Ionophorese

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnheilkunde
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt

von

Gisela Fritz
aus Mönchengladbach

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Dekan: Professor Dr. E. T o n u t t i
1. Berichterstatter: Professor Dr. A. K n a p p w o s t
2. Berichterstatter: Professor Dr. Dr. E. F r ö h l i c h

Herrn Professor Dr. A. K n a p p w o s t möchte ich an dieser Stelle herzlich danken für die freundliche Überlassung des Themas und die wertvollen wissenschaftlichen Hinweise.

Ebenso möchte ich dem leider inzwischen verstorbenen Herrn Dr. A. E f f i n g e r und Herrn Dr. H. J. F e c h t für die vielen praktischen Ratschläge danken.

Inhaltsübersicht.

	Seite
I. Einleitung und Problemstellung	5
II. Experimenteller Teil I	1o
Touchierungsmittel	1o
Nährmedien	14
Bakterienkulturen	17
Keimkonzentrationsmeßverfahren	18
A. Orientierende Vorversuche zur Wahl des Untersuchungsverfahrens	21
Versuchsanordnung I	21
Versuchsanordnung II	23
Zusammenfassung	33
B. Nephelometrische Untersuchungen mit Hilfe definierter Ionenkonzentrationen	34
Versuchsanordnung III	34
Zusammenfassung	42
III. Experimenteller Teil II	43
Das Stiftelement und seine bakterizide Wirkungsweise	43
C. Untersuchung der Hofbildung um das Stiftelement im Plattenverfahren	45
Bakterienkulturen	45
Nährmedien	46
Versuchsreihen 1 - 13	47 - 64

Seite

D. Nephelometrische Untersuchungen zum bakteriologischen Effekt des Stiftelements bei gangränösen Zähnen 65

Versuchsanordnung 65

Ergebnis 66

IV. Zusammenfassung 67

Anhang 68

Literaturnachweis 81

Lebenslauf 82

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41549610_0048

I. Einleitung und Problemstellung.

Eine wesentliche Voraussetzung für den Erfolg einer Wurzelbehandlung marktoter Zähne ist die Befreiung des gesamten Kanalsystems von Bakterien und deren Toxinen. Hierüber existiert eine umfangreiche Literatur (1). Die erfolgreiche Durchführung einer Wurzelbehandlung ist oft mit großen Schwierigkeiten verbunden, die zum größten Teil auf die eigentümlichen anatomischen Verhältnisse im apicalen Delta eines Zahnes zurückzuführen sind.

G. F i s c h e r (2) verdanken wir eingehende Studien über die anatomisch topographischen Verhältnisse im apicalen Bereich. Alle Zähne und besonders die Backenzähne weisen ein stark verzweigtes Kanalsystem im apicalen Delta auf. Deshalb ist es sehr schwierig, eine Sterilisation in diesem Bereich zu erzielen. Es ist bekannt, daß das typische Pulpengewebe bereits 2-3 mm vor der eigentlichen Wurzelspitze endigt. Im Kanalausgang befindet sich ein Mischgewebe aus Pulpa und Wurzelhaut, das über Kollaterale günstige Ernährungsverhältnisse für die Pulpa schafft.

Der Erfolg einer Wurzelbehandlung ist ferner vom Zustand des Gefäß- und Bindegewebes abhängig. In der Mehrzahl der Fälle ist dieses Gebiet schon infiziert oder gar gangränös zerfallen. Dann liegt die Aufgabe der Therapie darin, die Bakterien und Eiweißzersetzungsprodukte aus dem komplizierten Delta zu entfernen, damit die Regeneration im periapicalen Bereich nicht behindert wird. Nun stellt, wie oben erwähnt, der Wurzelkanal ein System von Kanälen dar. Nur der Hauptkanal wird in der Praxis aufbereitet, mit desinfizierenden, zweckmäßig alkalischen Agentien im Einlageverfahren wiederholt versehen und endlich mit einer wandständigen, kompakten Wurzelfüllung abgefüllt. Alle vom Hauptkanal ausgehenden Seitenkanäle werden dagegen bei der Wurzelfüllung nicht erfaßt, weil es technisch nicht möglich ist. Wohl aber können sie durch das desinfizierende Agens durch Diffusion erreicht werden, sofern

ihre Eingänge nicht verlegt sind und eine Diffusion des Agens ungestört erfolgen kann. Allerdings sind für die Diffusion hinreichender Mengen des desinfizierenden Agens meist längere Zeiten nötig.

Der Diffusion hoch überlegen ist der Transport elektrisch geladener Agentien (Ionen, Kolloide) durch ein elektrisches Feld, also durch Ionophorese und Elektrophorese (3), (4),(5).

Das klassische Ionophoreseverfahren wird gewöhnlich P. B e r n a r d (6) zugeschrieben. B e r n a r d gebührt das Verdienst, auf die Ionophorese der elektrolytisch erzeugten OH-Ionen nachdrücklichst hingewiesen zu haben. Die Grundlagen des Ionophoreseverfahrens überhaupt wurden dagegen schon sehr frühzeitig und vollständig von E. K e l l n e r (7) erarbeitet.

Beim OH-Ionophoreseverfahren wird der Körper als elektrolytische Zelle in einen Gleichstromkreis eingeschaltet. Die an der Kathode im Wurzelkanal entstehenden OH-Ionen wandern allmählich zum Foramen apicale ab, während vor ihnen eine große Anzahl Bakterien lebend bereits in den periapicalen Bereich eingewandert ist, so daß es also nicht zu einer ausreichenden Desinfektionswirkung kommen kann. Aus diesem Grund erwies sich dieses Verfahren allein angewandt oft als nicht ausreichend. Nach A. K n a p p w o s t ist es sinnvoller, OH-Ionen in Form eines Depots gleich von vornherein in den Wurzelkanal einzuführen. Das elektrische Feld hat dann nur noch die Aufgabe, den Transport der OH-Ionen in den apicalen Bereich zu besorgen.

Neben der Sterilisation des Wurzelkanals muß es aber auch das Ziel jeder Wurzelbehandlung sein, dem Organismus die Voraussetzungen zu einer Ossifikation im apicalen Bereich zu bieten. Wenn man nun die Wirkungsweise der Medikamente untersucht, so nehmen die alkalischen Desinfektionsmittel insofern eine Sonderstellung ein, als sie das für die Ossifikation notwendige Milieu schaffen.

Als Depot kann man nun z.B. Calciumhydroxyd $Ca(OH)_2$, Strontiumhydroxyd $Sr(OH)_2$ oder basisches Calcium-Magnesium-Caseinat (Reogan) wählen. Bei Verwendung von Calciumhydroxyd

oder Strontiumhydroxyd bildet sich an der Grenzfläche zum lebenden Gewebe eine Schicht von Calciumcarbonat ($CaCO_3$) bzw. Strontiumcarbonat ($SrCO_3$) als Reaktionsprodukte mit dem Bicarbonatpuffer des Serums. Diese Schicht läßt nur noch wenige OH-Ionen in das entzündete, saure Gewebe durchtreten, die dann nicht mehr ätzend, sondern nur noch entzündungshemmend wirken.

Bei Verwendung der alkalischen Calcium-Magnesium-Caseinate kann zu der statischen Desinfektionswirkung im Wurzelkanal noch eine dynamische Desinfektionswirkung im lebenden Gewebe hinzutreten, die als Folge der Anaphorese des Caseinats auftritt.

Im periapicalen Bereich sollte der physikalisch-chemische Prozeß der Entzündung normalisierend beeinflußt werden. In jedem Fall muß aber eine Überalkalisierung vermieden werden. Dies geschieht

1) bei Verwendung weit geringerer Stromstärken als beim Bernardschen Verfahren
2) durch Anwendung des oben erwähnten Depotionophoreseverfahrens, bei dem alkalische Salze verwendet werden, die die Fähigkeit haben, einmal sterile Verhältnisse im Wurzelkanal, zum anderen eine Calciumcarbonatbarrikade für die OH-Ionen im apicalen Bereich zu schaffen. Deshalb nennt man solche Desinfektionsmittel auch physiologisch wirkende Desinfektionsmittel.

Als entscheidende Vorteile gegenüber der Diffusion sind beim Ionophoreseverfahren zu werten:

1) Eine höhere Wandergeschwindigkeit der wirksamen Agentien (OH-Ionen, Kupferkolloide) um mehrere Größenordnungen.
2) Eine wesentliche Steigerung der Sterilisationskraft als Folge der in den Kanälen entstehenden Temperaturerhöhung.
3) Eine gleichstarke Durchströmung sämtlicher Kanäle auf Grund des Kirchhoffschen Gesetzes.
4) Eine bemerkenswerte Proteolyse der Bakterienleiber durch Anwendung alkalischer Medikamente mit einem hohen p_H-Gehalt.

Mit Hilfe des Ionophoreseverfahrens – auch bei nicht aufbereitbaren Kanälen – gelingt es, jeden Ort im apicalen Delta durch die keimtötenden Mittel zu erreichen. Die Einwirkungsdauer der Ionophorese ist jeweils relativ kurz in einer Sitzung. Die Schaffung absolut steriler Verhältnisse im ganzen Kanalsystem auf längere Zeit kann nur schwierig durch öftere Wiederholung der Ionophoresebehandlung erzielt werden; denn das an das Kanalsystem angrenzende Dentin kann von Bakterien infiziert sein. Die Bakterien können die direkt nach der Ionophoresebehandlung steril erscheinende Oberfläche des Kanalsystems erneut infizieren. Deshalb empfiehlt es sich, als Einlage zwischen zwei Ionophoresebehandlungen ein keimtötendes, schwach alkalisches Agens zu verwenden.

Den Nachteil des üblichen Verfahrens haben wir schon erwähnt und wiederholen ihn an dieser Stelle:
Das Ionophoreseverfahren hat eine zu kurze Wirkungsdauer und muß in ein und demselben Fall mehrmals in Anspruch genommen werden. Ferner muß zwischen einer Ionophoresebehandlung und der nächsten eine medikamentöse Zwischeneinlage erfolgen, um den bestmöglichen Desinfektionseffekt erzielen zu können.

A. K n a p p w o s t (8) suchte deshalb nach einem Verfahren, das eine über einen bestimmten Zeitraum länger anhaltende Wirkungsdauer der abgeschiedenen OH-Ionen im Wurzelkanal und im apicalen Bereich versprach, und erfand dabei das galvanische Stiftelement.

Ein Stiftelement besteht aus zwei verschiedenen, zusammengelöteten Metallen. Die edle Elektrode ragt in den Wurzelkanal hinein und die unedle in den als Elektrolyt wirkenden Speichel des Mundes. Bei der Reaktion löst sich die unedle Elektrode im Speichel langsam auf, während die edle Elektrode im Wurzelkanal elektrolytische Wirkungen ausübt.

Solch ein Stiftelement wird in den vorbereiteten Wurzelkanal eingeführt und für einige Tage – also nicht nur für einige Minuten wie bei der Ionophoresebehandlung – im Kanal belassen. Um die Langzeitwirkung des galvanischen Stiftelements zu steigern, hat K n a p p w o s t die edle Elektrode mit einem Depolarisator versehen. Beim Depot-

Ionophoreseverfahren - auch bei demjenigen mit dem Stiftelement - ist neben den OH-Ionen auch Kupfer als Kupferhydroxyd und Hydroxocuprat wirksam.

Die desinfizierende Wirkung des Kupfers ist schon sehr früh bekannt. O r e i b a s i o s (9) aus Pergamon beschreibt die infektionshemmende Wirkung des Kupfers. Er empfiehlt gegen Zahnfleischerkrankungen mit Honig vermischte Kupferschlacke und Kupferhammerschlag und als Massagemittel kupferhaltiges Eisenvitriol.

Nach C. v. N ä g e l i (1o) ist das Kupfer wegen seiner Toxizität eines der stärksten Gifte gegen Bakterien, Algen und Pilze. Erst in relativ hohen Dosen wirkt es im tierischen Organismus giftig.

A. E f f i n g e r (11) beweist in einer Arbeit, daß kupfer(II)oxydhaltige, aber auch andere schwerlösliche Kupferverbindungen enthaltende Zahnzemente sowohl die Entstehung eines vollwertigen, kollagenen Bindegewebes als auch eine Knochenmarksneubildung erheblich fördern. Bei Verwendung kupferhaltiger Zahnzemente beruht die starke Sekundärdentinbildung möglicherweise auf diesem Effkt. In einer älteren Arbeit lehnt R. N i o o l e (12) allerdings die Verwendung von Kupfer bei der Fremdkörperosteosynthese wegen seiner großen Gewebstoxizität ab. Die experimentellen Studien E f f i n g e r s zeigen indessen die hohe Wirksamkeit des Kupfers bei hinreichend schwachen Konzentrationen.

Wegen dieser bakteriziden Wirkung des Kupfers werden daher beim Stiftelement als edle Elektrode Kupfer und als Depolarisator kupferhaltige Depotpasten gewählt.

Wir stellen uns nun die Aufgabe, an verschiedenen Bakterienarten möglichst quantitative, bakteriologische Untersuchungen über die Wirksamkeit des galvanischen Stiftelements mit einem Depolarisator im Vergleich mit bekannten desinfizierenden Lösungen (Cervin, Cu-Cervin, Kaliumpermanganat-, Gottliebsche und Howesche Lösung) durchzuführen.

II. Experimenteller Teil I.

In diesem Teil wird eine Reihe von desinfizierenden Touchierungsmitteln auf ihre Wirksamkeit gegenüber einer Reihe von Reinkulturen und Kariesmischfloren untersucht. Dabei finden folgende Touchierungsmittel Verwendung:

1) Cervin
2) Cu-Cervin
3) Kaliumpermanganatlösung
4) Gottliebsche Lösung
5) Howesche Lösung

Theorie:

C e r v i n (Touchierungslösung) ist chemisch eine Magnesiumfluosilikatlösung $MgSiF_6$, ein Salz der Fluorkieselsäure H_2SiF_6 , die mit Hydroxyden (Nachtouchierungslösung) so reagiert, daß sich Kieselsäuregel und Fluoride bilden:

$$MgSiF_6 + 2\ Ca(OH)_2 \longrightarrow MgF_2 + 2\ CaF_2 + \underbrace{SiO_2 + 2H_2O}_{\text{Kieselsäuregel}}$$

C u - C e r v i n enthält zudem Cu(II)Ionen. Bei der alkalischen Nachtouchierung entsteht

$$Cu^{\cdot\cdot} + 2OH' \longrightarrow Cu(OH)_2 \quad ,$$

welches im ausgefallenen Kieselsäuregel für längere Zeit wirksam ist. Kupferhydroxyd fällt als himmelblauer, sehr wasserreicher Niederschlag aus.

Die besonders stark desinfizierende Wirkung des Cu-Cervins ist wohl darauf zurückzuführen, daß das Kupferion mit dem Schwefelion der Bakterienleiber reagiert. Es bildet sich dabei einmal Kupfer(I)sulfid Cu_2S mit einwertigem Kupfer und zum anderen Kupfer(II)sulfid CuS mit zweiwertigem Kupfer. Da nun ein- und zweiwertige Cu-Ionen in Lösung ein Redoxsystem

bilden, wirken die zweiwertigen Cu-Ionen als Oxydationsmittel, können also fremde Substanzen oxydieren und werden dabei selbst aber zu einwertigen Cu-Ionen reduziert. Das eigentliche Oxydationsmittel ist der Luftsauerstoff. Das Cu-Ion wirkt als Katalysator. Durch die Oxydation des schwerlöslichen Kupfer(I)sulfids entsteht dann das leichtlösliche Kupfersulfat:

$$2Cu_2S + 5O_2 = 2CuO + 2CuSO_4 \ ,$$

das stark bakterizid wirkt. Die Reaktion erfolgt relativ rasch und bewirkt die dauerhafte Desinfektionswirkung des Kupfers im Cu-Cervin. Durch das Kupfer im Cu-Cervin wird die desinfizierende Wirkung des Cervins noch erhöht.

Die gute desinfizierende Wirkung des Cervins und die noch bessere des Cu-Cervins ist bekannt. Sie soll der Wirkung weiterer Desinfektionsmittel wie Kaliumpermanganat-, Gottliebscher und Howescher Lösung gegenübergestellt werden.

K a l i u m p e r m a n g a n a t $KMnO_4$ ist ein starkes Oxydationsmittel, das noch in stark verdünnter Lösung wirksam ist. In nicht saurer Lösung, die in allen Versuchen verwendet wird, bildet sich aus dem Kaliumpermanganat nach seiner Oxydationswirkung zuerst grünes Manganat und dann erst Braunstein. Als Kaliumpermanganatlösung wird eine 1%ige Lösung verwendet, die bei Bedarf entsprechend verdünnt wird.

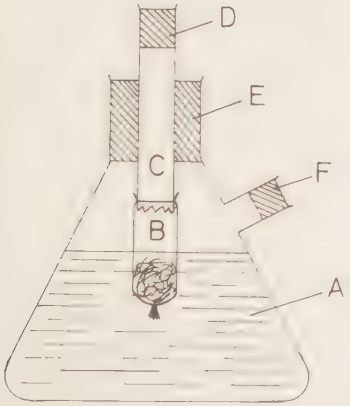
G o t t l i e b s c h e L ö s u n g ist eine Lösung von 40%igem Zinkchlorid $ZnCl_2$ (Lösung 1) und 10%igem Kaliumcyanoferrat $K_4\left[Fe(CN)_6\right]$ (Lösung 2). Beim Vermischen fällt ein weißer, feindisperser Niederschlag von Zinkcyanoferrat $Zn_2\left[Fe(CN)_6\right]$ aus, der nach der Touchierung des Dentins die feinen Dentinkanälchen verstopft. Zwecks besserer Anwendung wird aus dem Niederschlag im Dialysenschlauch-Verfahren eine ionenreiche Lösung hergestellt. Das Verfahren wird im Anschluß an den Abschnitt über die Howesche Lösung (s.S.13) beschrieben.

H o w e s c h e L ö s u n g ist eine ammoniakalische Silbernitratlösung. Der wirksame Teil der Lösung sind die Silberionen des Niederschlags von Silberoxyd (Ag_2O). Letzteres ist relativ leicht löslich und bildet in wässriger Lösung Silberhydroxyd AgOH und damit Hydroxyl- und Silberionen. Die Silberionen werden nun von der negativ geladenen Bakterienzelle absorbiert. Dadurch kommt es zum Stoffwechselstillstand. Bei diesem Vorgang bilden sich Silber-Eiweiß-Verbindungen, die infolge langsamer Dissoziation Silberionen liefern können. Endprodukt der Reaktion ist das schwerlösliche Silbersulfid Ag_2S, das gegen Bakterien vollkommen wirkungslos ist. In chlorhaltigen Lösungen fällt aus AgOH sofort schwerlösliches Silberchlorid AgCl unter Bildung von OH-Ionen aus. Silberchlorid aber vermindert die bakterizide Wirkung des Silbers, was allerdings durch die gleichzeitig entstehenden OH-Ionen meist kompensiert wird. Trotzdem hat die Silberchloridbildung eine merkliche Desaktivierung zur Folge, da das Chlorid relativ schwer löslich ist.

Das soll heißen: Wir brauchen also nur dafür zu sorgen, daß genügend Silberoxyd vorhanden ist, das in wässriger Lösung Ag-Ionen abgibt. Einen Niederschlag von metallischem Silber, das in Gegenwart von Luftsauerstoff bei Raum- und Mundtemperatur mit einer Schicht von Ag_2O bedeckt ist, erhalten wir durch Reduktion von ammoniakalischer Silbernitratlösung mit Metol-Hydrochinon. Durch gründliches Auswaschen mit destilliertem Wasser wird der gewonnene Niederschlag gereinigt, dann filtriert und anschließend im Exsiccator getrocknet.

Herstellung desinfizierender, ionenreicher Lösungen im Dialysenschlauch-Verfahren.

Für die spätere nephelometrische Bestimmung der Bakterienkonzentration sind trübungsfreie Extrakte der Desinfektionslösungen notwendig, die durch ein Dialysenschlauch-Verfahren gewonnen werden. Dabei findet folgende Apparatur Verwendung:



A = Nährlösung
B = Dialysenschlauch mit Nährlösung und Niederschlag
C = Hälfte eines Reagenzglases
D,E,F = Stopfen

Sowohl in den Dialysenschlauch als auch in den Kolben wird bis auf gleiche Höhe Nährlösung (Nr.2 s.S.14) gebracht. Die Stopfen werden aufgesetzt und der Apparat bei 105°C 30 Minuten sterilisiert. Nach Abkühlung wird unter sterilen Bedingungen der Niederschlag eingeführt. Durch das bestehende Ionengefälle wandern die Ionen aus B durch die eine Membran darstellende Schlauchwand hindurch in die Lösung A hinein. In unseren Versuchen findet dann die ionenreiche Lösung A als Desinfizienz Verwendung. Bis zum jeweiligen Gebrauch wird sie im Kühlschrank bei 8°C aufbewahrt.

Die auf diese Weise gewonnenen ionenreichen Lösungen der Gottliebschen bzw. Howeschen Lösung werden im folgenden Text der Einfachheit halber mit Gottliebscher bzw. Howescher Lösung bezeichnet.

Nährmedien.

1) Herstellung von physiologischer Kochsalzlösung:

9,o g Kochsalz (NaCl p.A.) werden in 1 l destilliertem Wasser gelöst, bei 11o°C im Autoklaven 3o Minuten sterilisiert und bis zum jeweiligen Gebrauch im Kühlschrank aufbewahrt. Sie dient z.B. zur Verdünnung von Bakterienfloren.

2) Herstellung von Nährlösungen:

Nr.1: Normale Nährlösung ohne Dextrose: p_H = 7,2

Aqua destillata	1ooo,o	cm^3
Pepton (Witte)	1o,o	g
Liebigs Fleischextrakt	1o,o	g
NaCl p.A.	3,o	g
Na_2HPO_4	2,o	g

Nr.2: Nährlösung-Vergleichslösung: p_H = 7,2

Aqua destillata	1ooo,o	cm^3
Na-citrat · $3H_2O$	o,5	g
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	o,1	g
NaCl p.A.	o,3	g
$(NH_4)_2SO_4$	o,5	g
Gelatine	1,o	g
Tryptophan	o,o5	g

Nr.3: Normale Nährlösung ohne Dextrose: p_H = 7,2

Aqua destillata	1ooo,o	cm^3
Pepton (Witte)	1o,o	g
Liebigs Fleischextrakt	1o,o	g
Na Cl p. A.	3,o	g
K_2HPO_4	o,1	g
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	o,2	g
Blut (3 Tropfen/1o,o cm^3)		

Nr.4: Nährlösung mit Dextrose: p_H = 7,2

Aqua destillata	1000,0	cm^3
Pepton (Witte)	10,0	g
Liebigs Fleischextrakt	10,0	g
Dextrose	20,0	g
NaCl p.A.	3,0	g
K_2HPO_4	0,1	g
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0,2	g

Nr.5: Nährlösung-Vergleichslösung: p_H = 7,2

Aqua destillata	1000,0	cm^3
Na-citrat $\cdot 3H_2O$	0,5	g
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0,1	g
NaCl p.A.	0,3	g
$(NH_4)_2SO_4$	0,5	g
Gelatine	0,75	g
Tryptophan	0,05	g
$MnSO_4$	0,025	g

Die Pulversubstanzen werden in wenig destilliertem Wasser zu einem Brei angerührt. Dabei gehen die Salze in Lösung. Dann geben wir den Rest bis zu 1 l destilliertem Wasser und die Gelatine bzw. Bis zur vollständigen Auflösung der Gelatine erhitzen wir die Lösung im Wasserbad. Anschließend stellen wir den p_H-Wert mit Hilfe von Säure (Essigsäure) bzw. Lauge (Natronlauge) auf die betreffende Bakterienart ein. Dann sterilisieren wir die Lösung im Dampftopf maximal bei 110°C eine Stunde lang, da bei höheren Temperaturen einmal die Erstarrungsfähigkeit der Gelatine leidet, zum anderen die Dextrose gebräunt wird. Nach Erkalten der Lösung wird sie im Kühlschrank bei 6°C bis zum jeweiligen Gebrauch aufbewahrt.

Tritt eine störende, durch Filtration nicht zu beseitigende Trübung auf, so wenden wir die Eiweißklärung an. Dazu wird Hühnereiweiß mit der doppelten Menge Wasser kräftig geschüttelt und der nach dem Kochen auf 50°C abgekühlten Nährlösung unter Umrühren zugesetzt. Nach nochmaligem Erhitzen

der Lösung im Dampftopf filtrieren wir sie im Heißwassertrichter und sterilisieren sie anschließend. Die Nährlösung wird bis zum jeweiligen Gebrauch im Kühlschrank bei 8°C aufbewahrt.

3) Herstellung von Nähragararten:

Nr.1: Nähragar mit Dextrose: p_H = 7,o

Aqua destillata	1ooo,o cm^3
Dextrose	2o,o g
Liebigs Fleischextrakt	1o,o g
Pepton (Witte)	1o,o g
NaCl p.A.	5,o g
$MgSo_4 \cdot 7H_2O$	1,o g
Agar-Agar	25,o g

Nr.2: Nähragar ohne Dextrose: p_H = 7,2

Aqua destillata	1ooo,o cm^3
Liebigs Fleischextrakt	1o,o g
Pepton (Witte)	1o,o g
NaCl p.A.	3,o g
K_2HPO_4	o,1 g
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	o,2 g
Agar-Agar	25,o g

Die Pulversubstanzen und der Fleischextrakt werden mit destilliertem Wasser zu einem Brei angerührt. Den Rest bis zu 1 l destilliertem Wasser geben wir dazu, ferner Agar-Agar. Das Ganze wird erwärmt und im Wasserbad bzw. im Dampftopf bis zur Auflösung des Agar-Agars erhitzt. Dann bestimmen wir den p_H-Wert und stellen ihn auf den betreffenden Wert für die jeweilige Bakterienart geeignet ein. Um eine vorzeitige Erstarrung zu vermeiden, wird der Agar-Agar im Heißwassertrichter filtriert. Eine evt. auftretende Trübung beseitigen wir durch die im vorausgehenden Abschnitt Nährlösungen (s.S.14) beschriebene Hühnereiweißklärung. Danach ist eine nochmalige Filtration im Heißwassertrichter notwendig.

Auch der p_H-Wert muß neu eingestellt werden. Endlich wird der Nähragar im Dampftopf bei 110°C eine Stunde lang sterilisiert und nach seiner Erkaltung bis zum Gebrauch im Kühlschrank bei 8°C aufbewahrt.

Züchtung der benötigten Bakterienkulturen.

1) Bacillus alvei:

Sie gehören in die Gruppe der aeroben Sporenbazillen. Die Agaroberfläche wird so schleierartig überzogen, daß der Bacillus alveus gelegentlich mit Bacterium proteus, gramnegativen, sporenlosen Bakterien verwechselt werden kann. Das Ausstrichpräparat ist entscheidend. Wegen ihrer hohen Resistenz chemischen Agentien gegenüber sind sie als Testmikroben besonders geeignet. Die Bazillen werden mit Hilfe der Gramfärbung im Ausstrichpräparat aus einem Erdaufguß diagnostiziert, auf sterilen Agarplatten mit Nähragar (Nr.2 s.S.16) gezüchtet, in ein steriles Reagenzglas mit steriler Nährlösung (Nr.3 s.S.14) überimpft und 24 Stunden bei einer Temperatur von 34°C im Brutschrank bebrütet.

2) Orale, aerobe Mischflora:

Als Erregerkultur wird eine von Zahnbelägen stammende Mischflora gewählt. Das mit Hilfe der Gramfärbung hergestellte Ausstrichpräparat zeigt eine Kultur von Staphylo-, Strepto- und Diplokokken, ferner Milchsäurestäbchen und Hefepilze. Der Prozentsatz der Staphylokokken ist relativ hoch. Nach K o l l e - H e t s c h (13) ist die Resistenz der Staphylokokken gegen schädigende Einflüsse und Desinfektionsmittel recht erheblich. Die Staphylokokken bilden deshalb ein geeignetes Objekt für die Prüfung von Desinfektionsmitteln.

3) Bacillus subtilis oder Heubazillus:

Er eignet sich besonders wegen seiner hohen Resistenz gegenüber chemischen Agentien und zeigt auf der Agarplatte ein lokalisiertes Kolonienwachstum, das ein rasches, einwandfreies Auszählen der Kolonien garantiert. Das Arbeiten

mit dem Heubazillus ist nicht ungefährlich, da nach Einwanderung des Bazillus in ein verletztes Auge dasselbe erblinden kann. Der Bacillus subtilis gehört in die Gruppe der Sporenbazillen, zu den wichtigen Zersetzungserregern, deren Aufgabe es ist, alle organischen Stoffe in ihre anorganischen Urbestandteile wie H_2O, CO_2, NH_3 und Salze zu zerlegen. Er wird sehr mühevoll aus einem Erdaufguß über einen Nährboden (Nähragar Nr.2 s.S.16) isoliert und in einer Nährlösung (Nr.3s.S.14) herangezüchtet. Die Diagnose erfolgt durch das Ausstrichpräparat mit Hilfe der Gramfärbung.

Bei Verunreinigung der Reinkulturen werden die Versuchskeime nach häufigen Nährlösungs- und Agarpassagen für den jeweiligen Versuch neu herangezüchtet.

Keimkonzentrationsmeßverfahren.

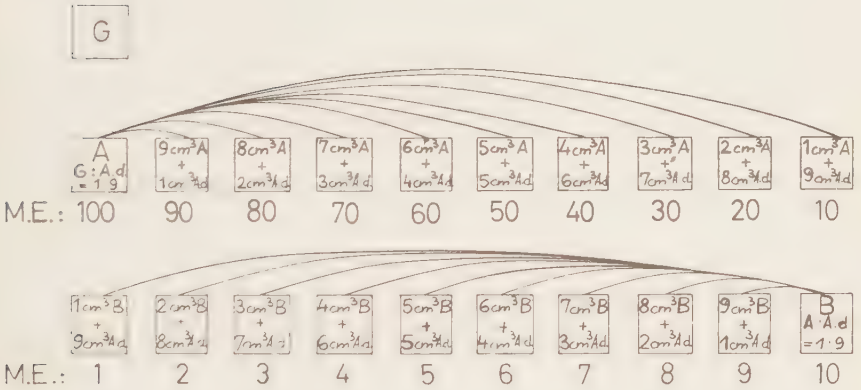
Lichtoptisches Kolorimeter mit definierter Mastixsuspension als Vergleichslösung:

Zur Messung der Bakterienkonzentration wenden wir ein nephelometrisches Verfahren an, bei dem als Vergleichslösung eine definierte Mastix-Wasser-Suspension dient. Die Konzentrationsmessung in Mastix-Einheiten ist in einer Arbeit von A. K n a p p w o s t (8) beschrieben. Mittels eines einfachen Komparators (14) wird unter günstigen Licht- und Betrachtungsverhältnissen die Trübung von Versuchsröhrchen mit geeichten Teströhrchen verglichen und bewertet. Die dabei benötigte Mastixgrundlösung wird folgendermaßen hergestellt:
30 mg Mastix werden unter Zugabe von destilliertem Wasser in 5 cm^3 Aceton gelöst und die Lösung auf 10 cm^3 mit destilliertem Wasser aufgefüllt. Mit Hilfe dieser Grundlösung wird eine Reihe von definierten Verdünnungen hergestellt, durch die wir eine Werteskala für die Trübungen der Versuchsröhrchen erhalten. In der nun folgenden Abbildung 1 finden wir eine

Abstufung der Trübungsgrade im Bereich von 1-loo Mastix-Einheiten aufgezeichnet, wobei

1 M.E. ---► o,o3 mg Mastix/lo cm^3 Aqua destillata entspricht.

Abb.1:



G. = Mastixgrundlösung
M.E. = Mastix-Einheiten
A.d. = Aqua destillata

Eine wesentlich größere Genauigkeit erzielt man mittels eines lichtoptischen Kolorimeters.

Das Kolorimeter nach K r ü s s - D u b o s c q
(Modell KD 75oo)

Es besteht aus zwei in ihrer Ausdehnung und Intensität genau gleichen Lichtquellen. Über diesen befinden sich zwei ebenfalls gleiche zylinderförmige Küvetten für Meß- bzw. definierte Vergleichslösung, die in vertikaler Richtung bewegt werden können und je mit einer Skala in 2/1o mm Einteilung gekoppelt sind. In beide Küvetten tauchen Glasstäbe mit Planschliffen ein, die das durch die zu untersuchende bzw. durch die Vergleichslösung nicht absorbierte Licht auf ein Linsen- und Prismensystem übertragen. Das Gesichtsfeld ist in zwei Hälften geteilt, welche jeweils zu einer der beiden Küvetten gehören. Die Änderung der Schichthöhe des Küvetteninhalts herbeigeführt durch verschieden tiefes Eintauchen der Glasstäbe hat eine Änderung der Lichtabsorption zur Folge. Es kann so ein einheitlicher Lichtwert für die beiden Hälften des Gesichtsfeldes eingestellt werden. Die gesuchte Keim-Konzentration errechnet sich nach dem Gesetz von L a m b e r t - B e e r , dessen Gültigkeit vorausgesetzt wird und das für diese relativ geringen Trübungen hinreichend gut erfüllt ist, zu

$$C_B = C_M \frac{h_B}{h_M} \quad , \quad \text{wobei}$$

C_M die Konzentration der Eichlösung(stets links im Kolorimeter)
C_B die zu bestimmende Konzentration(stets rechts im Kolorimeter)
h_B die Eintauchtiefe des Planglaszylinders in die Küvette mit unbekannter Keimkonzentration
h_M die Eintauchtiefe des Planglaszylinders in die Küvette mit bekannter Konzentration der Eichlösung ist.

Als Vergleichslösung wird folgende Mastixsuspension benutzt: 14 mg Mastix / 1oo cm^3 Lösung.
35 mg Mastix werden in 5 cm^3 Aceton gelöst und 2o cm^3 Aqua destillata dazugegeben. Durch vorsichtiges Erhitzen wird das Aceton abgedampft, das Ganze mit Aqua destillata auf 25o cm^3 aufgefüllt und anschließend im Dampftopf bei 11o°C 3o Minuten lang sterilisiert.

II. A. Orientierende Vorversuche zur Wahl des Untersuchungsverfahrens.

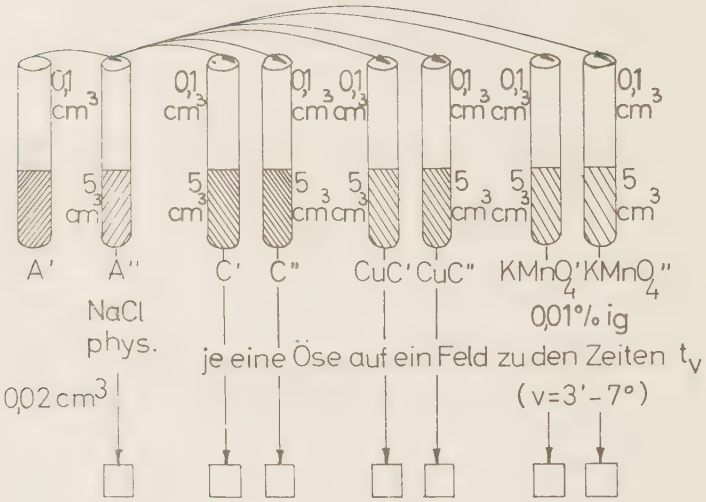
Versuchsanordnung I:

Zunächst bedienen wir uns eines Verfahrens, das im Prinzip mit dem Plattenverfahren der Inaugural-Dissertation von A. **E i s e n m a n n** (15) übereinstimmt:

Nach dem Schema der Abbildung 2 (s.S.22) werden aus der Bouillon- Kultur A' mit Nährlösung Nr.1 (s.S.14) über ein Verdünnungsröhrchen A" mit definierter, steriler, physiologischer Kochsalzlosung definierte Mengen der Erreger zu definierten Mengen der desinfizierenden Substanz C', C", CuC', CuC" und $KMnO_4$', $KMnO_4$" (C=Cervin, CuC=Cu-Cervin) gegeben. Nach bestimmten Zeiten t_v (v= 3',5',1o',2o',3o',1^o,2^o,3^o,4^o,5^o,6^o,7^o) entnehmen wir diesen Röhrchen jeweils 3 Platinösen Flüssigkeit, impfen sie auf nach Zeiten t_v gefelderten Dextrose-Nähragarplatten (Dextrose-Nähragar Nr.1 s.S.16) und bebrüten sie im Brutschrank für 24 Stunden bei einer Temperatur von 34^{o}C. Nach dieser Zeit zählen wir die entstandenen Keimkolonien aus. Jede Keimkolonie entspricht dann bekanntlich einem überimpften Keim aus A", so daß auf die jeweilige nach der Zeit t_v noch vorhandene Keimkonzentration geschlossen werden kann.

Durch einen Eichversuch können wir die Bakterienkonzentration in einer definierten Menge Kultur dadurch feststellen, daß wir z.B. o,2 cm^3 einer verdünnten Bakterienkultur (A") mit flüssigem, sterilem Dextrose-Nähragar (Nr.1s.S.16) zur gleichmäßigen Bewachsung in einer sterilen Petrischale verschütteln und einen Tag lang bei 34^{o}C im Brutschrank bebrüten. Dann werden die Keimkolonien auf der Platte ausgezählt. Da nun bekanntlich jeder Keimkolonie ein Keim und umgekehrt entspricht, so hat man bei bekannter Verdünnung die Anzahl der Keime in 1 cm^3 der Ausgangsflora und damit die Bakterienkonzentration in einer definierten Menge Kultur.

Abb.2:



Nach oben angeführtem Schema werden nun die Versuche mit einer Kariesmisohflora angesetzt und wir erhalten folgende Ergebnisse:

Tabelle 1:

Zeit	Keimzahl / Öse		
	Cervin	Cu-Cervin	$KMnO_4$
3'	34	-	wegen zu dichter
5'	-	-	Bewachsung Auszählung
1o'	-	-	der Keime unmöglich
2o'	-	-	177
3o'	-	-	192
1°	-	-	132
2°	-	-	77
3°	-	-	1o
4°	-	-	4
5°	-	-	-
6°	-	-	-
7°	-	-	-

Auswertung:

In dem Versuch mit Cu-Cervin ist keine der beiden Platten und in dem mit Cervin nur eine nach einer Zeit von 3 Minuten mit Keimen bewachsen, während in dem Versuch mit o,ol%iger Kaliumpermanganatlösung nach den Zeiten t_v (v = 3', 5', lo') eine so dichte Bewachsung mit Keimen zu sehen ist, daß eine Auszählung nicht möglich ist. Abbildung 21 (s.S.68) zeigt dies deutlich. Erst nach einer Zeit von 2o Minuten sind die Keime auszählbar.

Abbildung 21 (s.S.68) und Tabelle 1 (s.S.22) geben Aufschluß über die Brauchbarkeit der Methodik. Die einzelnen Zeitabstände, besonders die im Bereich der ersten lo Minuten, sind zu groß. Ferner ist die Auszählung der Platten zeitraubend und hygienisch nicht unbedenklich, da man dem Wirkungsbereich einer Vielzahl von Bakterien direkt ausgesetzt ist.

Versuchsanordnung II:

Unter Berücksichtigung der Mängel der ersten Methodik arbeiten wir nun ein neues Verfahren aus, das eine Variation des ersten ist. Statt Fleischwasser wird durchsichtige, klare Nährlösung (Nr.2 s.S.14) gewählt. Während das erste Verfahren auf einer Zählung beruht, messen wir im zweiten die Keimzahl mit Hilfe des Trübungswertes in Mastix-Einheiten. Zur Bestimmung des Trübungsgrades dient zunächst ein einfacher Komparator, später das Kolorimeter nach K r ü s s - D u b o s c q (s.S.2o)

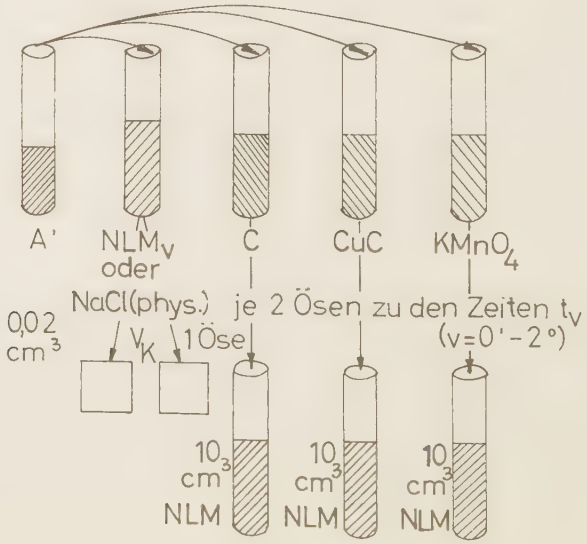
Bei Anwendung eines Komparators sind die mit Mastixlösung verschiedener Konzentration angefüllte Vergleichsröhrchen auf lo cm^3 geeicht. Dann müssen auch die Bouillonröhrchen, deren Trübungsgrade nach der Bebrütung gemessen werden, auf lo cm^3 geeicht sein. Wie oben erwähnt (s.S.2o), benötigt man bei Anwendung des Kolorimeters nach K r ü s s - D u b o s c q nur noch eine Vergleichslösung.

Auch bei der zweiten Methodik verwenden wir wieder eine Ausgangskultur A', die einmal eine Reinkultur (Bac. alvei, Bac. subtilis) und zum anderen eine Mischkultur (orale, aerobe Mischflora) darstellen kann. Bei Bedarf können wir sie mit physiologischer Kochsalzlösung bzw. durchsichtiger, klarer Nährlösung (Nr.2 s.S.14) verdünnen (V_K , V_N).

In unseren Versuchen werden definierte Mengen Erregerkultur (Ösen) definierten Mengen (cm^3) einer Reihe auf ihre Wirksamkeit zu untersuchenden Desinfizientien zugeführt. Dann impfen wir zu bestimmten Zeiten t_v (v = o', 1', 2', 3', 4', 5', 1o', 15', 2o', 3o', 1^o, 2^o) mit definierter, steriler, klarer Nährlösung (Nr.2 s.S.14) gefüllte, sterile Reagenzgläser ab und bebrüten sie für Stunden bzw. Tage bei 37^oC im Brutschrank (Abb. 3 s. unten). Zur Feststellung des Trübungsgrades der bebrüteten Röhrchen benützen wir als Maß für die vorhandene Keimkonzentration den Komparator oder das Kolorimeter.

Auch hier wird für jede Flora zur Bestimmung der Keimzahl in einer definierten Menge Nährlösung ein Eichversuch angesetzt, der dem auf Seite 21 angeführten Eichversuch analog verläuft.

Abb. 3:



Folgende Versuche werden angesetzt:

1) Bacillus alvei:

Es werden die Desinfizientien Cervin, Cu-Cervin und o,1%ige Kaliumpermanganatlösung geprüft: Die Ausgangskultur verwenden wir unverdünnt. Im Eichversuch erhalten wir: $7{,}05 \cdot 10^7$ Keime/cm^3 ; 1 M.E. ---► $1{,}85 \cdot 10^6$ Keime.

Es folgen die Versuchsergebnisse mit Tabellen 2-4:

Tabelle 2: Cervin

	3. Tag			4. Tag			5. Tag		
Zeit	T.W. in M.E.	Kz 10^3/Ö.	% der A.K.	T.W. in M.E.	Kz. 10^3/Ö.	% der A.K.	T.W. in M.E.	Kz. 10^3/Ö.	% der A.K.
o'	7,7	713o	1oo,o	8,o	741o	1o3,6	5,o	463o	65,o
1'	4,3	398o	55,8	4,2	388o	54,5	5,7	528o	74,o
2'	4,o	371o	51,9	2,8	259o	36,3	5,5	5o9o	71,4
3'	3,5	324o	45,4	3,2	297o	41,6	5,4	5o1o	7o,1
4'	3,o	278o	38,9	3,o	278o	38,9	5,3	492o	68,7
5'	2,5	232o	32,4	5,2	482o	67,5	6,4	593o	83,2
1o'	1,5	139o	19,5	2,o	1855	25,9	1,5	139o	19,5
3o'	1,4	1295	18,2	2,o	1855	25,9	1,8	1665	23,3
1^o	1,2	1115	15,6	2,2	2o4o	28,6	4,o	371o	51,9
2^o	1,o	927	13,o	-	-	-	-	-	-

Tabelle 3: Cu-Cervin

o'	1,3	125o	1oo,o	1,5	139o	115,5	5,4	5o1o	416,o
1'	o,8	742	61,5	o,6	557	46,2	o,2	185	15,4
2'	o,7	649	53,8	o,8	742	61,5	o,2	185	15,4
3'	o,7	649	53,8	o,7	649	53,8	1,3	125o	1oo,o
4'	1,2	1115	92,3	o,8	742	61,5	o,7	649	53,8
5'	o,7	649	53,8	o,6	557	46,2	o,3	278	23,1
1o'	o,5	463	38,4	o,5	463	38,4	o,4	371	3o,7
3o'	o,5	463	38,4	o,7	649	53,8	o,3	278	23,1
1^o	o,2	185	15,4	o,4	371	3o,7	o,6	557	46,2
2^o	o,2	185	15,4	o,2	185	15,4	o,2	185	15,4

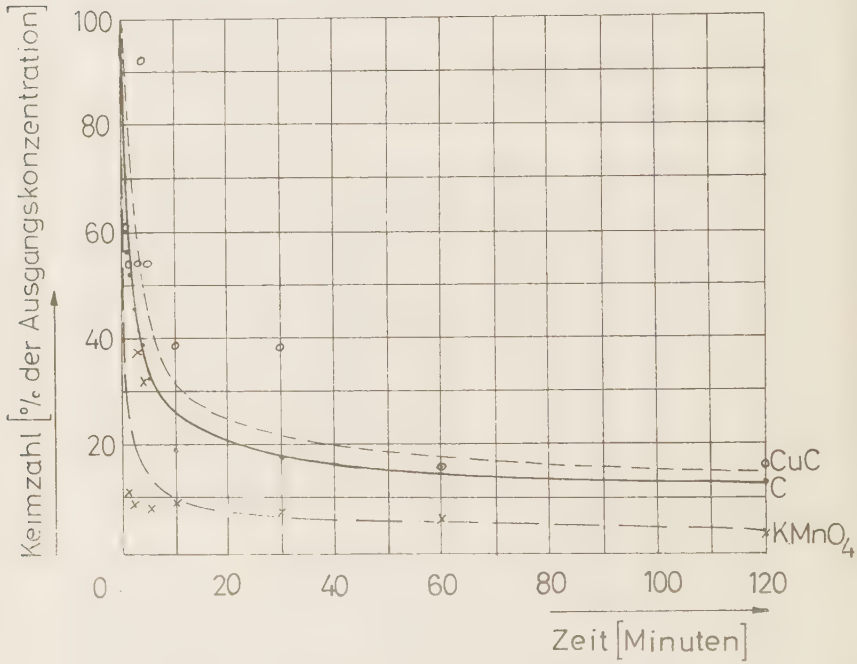
Tabelle 4: $KMnO_4$-Lösung

o'	9,5	881o	1oo,o	9,8	9o9o	1oo,3	23,o	213oo	242,o
1'	1,o	927	1o,5	1,3	125o	13,7	o,7	649	7,4
2'	o,8	742	8,4	2,5	232o	26,3	3,5	324o	36,8
3'	3,5	324o	36,8	3,7	343o	38,9	3,o	278o	31,6
4'	3,o	278o	31,6	1,8	1665	18,9	4,5	4165	47,3
5'	o,7	649	7,4	o,8	742	8,4	o,4	371	4,2
1o'	o,8	742	8,4	o,6	557	6,3	o,4	371	4,2
3o'	o,6	557	6,3	1,o	927	1o,3	o,2	185	2,1
1^o	o,5	463	5,3	o,3	278	3,2	o,o	o	o,o
2^o	o,3	278	3,2	o,1	92	1,1	o,2	185	2,1

T.W.= Trübungswert
M.E.= Mastix-Einheit
Kz. = Keimzahl
Ö. = Öse
A.K.= Ausgangskonzentration

Abbildung 4 stellt die Ergebnisse graphisch dar:

Abb.4:



Die Auswertung ergibt folgendes Bild:

Bei der Verwendung von Cervin und Cu-Cervin ist zwischen o und 1 Minute ein steiler Keimabfall etwa um 5o% zu verzeichnen, während in den Versuchen mit Kaliumpermanganatlösung ein sehr steiler Keimabfall von 9o% zwischen o und 1 Minute festzustellen ist. Der weitere Verlauf der Kurven ist abgesehen von einigen Streuwerten sanft abfallend. Es werden jedoch nicht alle Bakterien abgetötet. Dies wird durch eine nochmalige Bebrütung über zwei Tage bestätigt.

2) Orale, aerobe Mischflora:

Es werden ebenfalls die Desinfizientien Cervin, Cu-Cervin und o,1%ige Kaliumpermanganatlösung untersucht. Die Ausgangskultur wird verdünnt verwendet: Es verhält sich Bakterienflora zu physiologischer Kochsalzlösung wie 4 zu 3. Der Eichversuch liefert: $5,19 \cdot 10^7$ Keime/cm^3; 1 M.E. ---► $1,62 \cdot 10^5$ Keime. Tabellen 5-7 und Abbildung 5 zeigen die Meßergebnisse:

Tabelle 5: Cervin

	2. Tag			3. Tag			4. Tag		
Zeit	T.W. in M.E.	Kz. 10^3	% der Ö. A.K.	T.W. in M.E.	Kz. 10^3/Ö.	% der A.K.	T.W. in M.E.	Kz. 10^3/Ö.	% der A.K.
o'	23	1865	1oo,o	28	227o	121,7	35	283o	152,1
1'	22	178o	95,6	27	2185	117,5	33	2675	143,5
2'	22	178o	95,6	25	2o3o	1o8,7	29	235o	126,2
3'	21	17o5	91,3	23	1865	1oo,o	25	2o3o	1o8,6
4'	1,2	97,4	5,2	8,5	688	36,9	14	1135	6o,8
5'	23	1865	1oo,o	28	227o	121,7	3o	243o	13o,5
1o'	2,2	17	9,5	3,2	259	13,9	4,5	365	19,5
15'	17	138o	73,9	23	1865	1oo,o	28	227o	121,7
2o'	22	178o	95,6	26	2115	113,o	27	2185	117,5
3o'	21	17o5	91,3	26	2115	113,o	25	2o3o	1o8,6
1^o	18	146o	78,3	25	2o3o	1o8,6	26	2115	113,o
2^o	17	138o	73,9	24	195o	1o4,3	26	2115	113,o

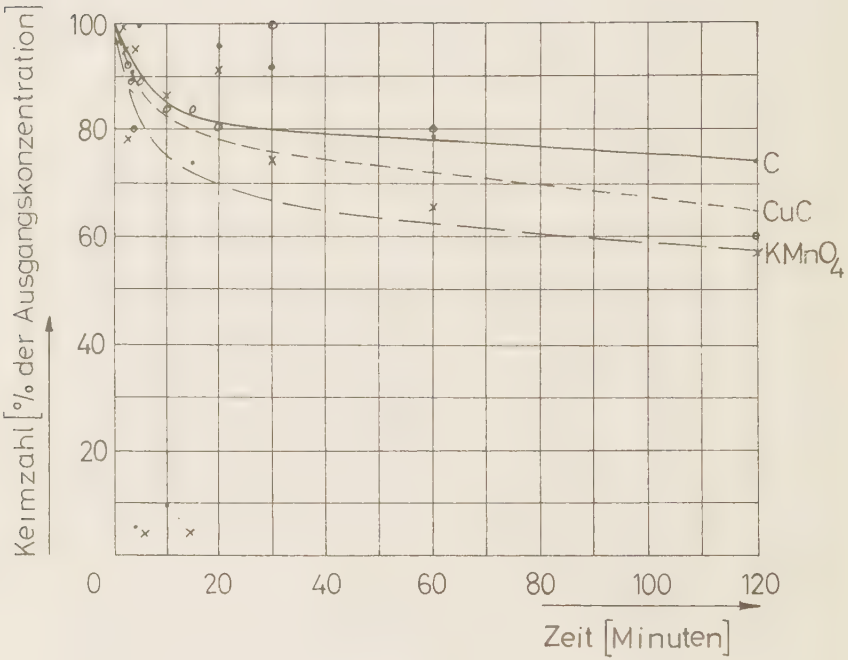
Tabelle 6: Cu-Cervin

o'	25	2o3o	1oo,o	35	283o	14o	37	3ooo	152
1'	24	195o	96	33	2675	132	35	283o	14o
2'	23	1865	92	25	2o3o	1oo	28	227o	112
3'	22	178o	88	33	2675	132	33	2675	132
4'	2o	1625	8o	28	227o	112	29	235o	116
5'	22	178o	88	3o	243o	12o	31	252o	124
1o'	21	17o5	84	3o	243o	12o	33	2675	132
15'	21	17o5	84	28	227o	112	28	227o	112
2o'	2o	1625	8o	28	227o	112	29	235o	116
3o'	25	2o3o	1oo	28	227o	112	29	235o	116
1^o	2o	1625	8o	22	178o	88	27	2185	1o8
2^o	15	1215	6o	2o	1625	8o	25	2o3o	1oo

Tabelle 7: $KMnO_4$-Lösung

o'	23	1865	1oo,o	32	259o	139	35	283o	152,2
1'	23	1865	1oo,o	28	227o	121,7	33	2675	143,5
2'	22	178o	95,6	26	2115	113	28	227o	121,7
3'	18	146o	78,3	24	195o	1o4,3	3o	243o	13o,5
4'	22	178o	95,6	28	227o	121,7	31	252o	134,5
5'	o,8	64,8	3,5	18	146o	78,3	25	2o3o	1o8,6
1o'	2o	1625	86,9	28	227o	121,7	33	2675	143,5
15'	o,8	64,8	3,5	2,5	2o3	1o,9	3	243	13,1
2o'	21	17o5	91,3	26	2115	113	3o	243o	13o,5
3o'	17	138o	73,9	25	2o3o	1o8,6	28	227o	121,7
1^o	15	1215	65,3	25	2o3o	1o8,6	28	227o	121,7
2^o	13	1o55	56,5	23	1865	1oo	27	2185	117,5

Abb.5:



Vorstehende Tabellen und das Kurvendiagramm zeigen in den ersten lo Minuten bei allen verwendeten Desinfizientien einen steilen Keimabfall von etwa 2o%. Der weitere Verlauf der Kurven ist abgesehen von einigen Streuwerten kontinuierlich abfallend. Nach zwei Stunden sind noch mindestens 55% der Keime vorhanden, die sich sehr rasch vermehren können. Dies beweist eine nochmalige Bebrütung der Kulturen für einige Tage.

3) Bacillus subtilis:

Mit dieser Bakterienart werden drei Versuchsreihen (I,II,III) angesetzt, wobei die Desinfizientien Cervin, Gottliebsche und Howesche Lösung untersucht werden. Die Erregerkultur wird unverdünnt verwendet. Im Eichversuch bekommen wir zur Bestimmung der Keimkonzentration mit Hilfe des Trübungswertes folgende Daten für die I. Versuchsreihe:

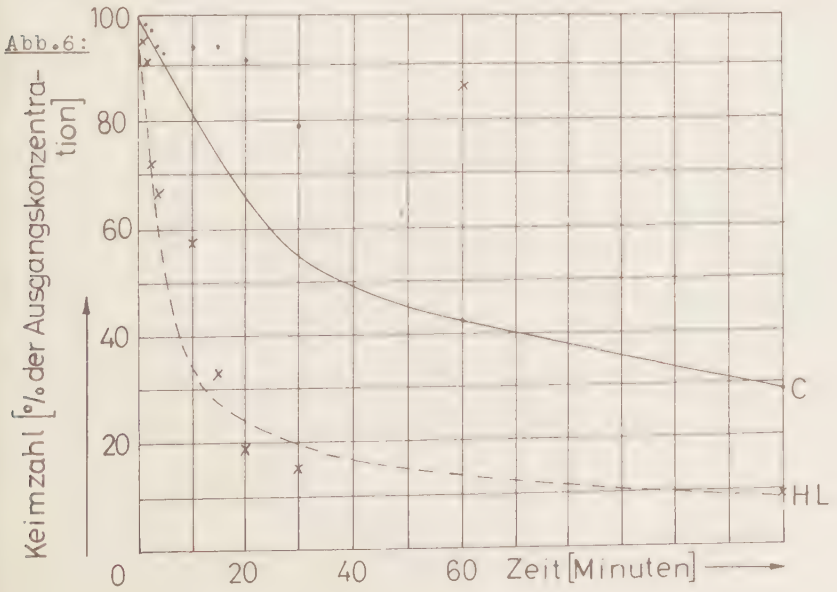
$1{,}96 \cdot 10^7$ Keime/cm^3 ; 1 M.E.----► $3{,}22 \cdot 10^4$ Keime.

Tabelle 8 und Abbildung 6 zeigen die Meßergebnisse:

Tabelle 8:

	Cervin			Gottliebsche Lösung			Howesche Lösung		
Zeit	T.W. in M.E.	Kz. 10^3/Ö.	% der A.K.	T.W. in M.E.	Kz. 10^3/Ö.	% der A.K.	T.W. in M.E.	Kz. 10^3/Ö.	% der A.K.
o'	14,4	232o	1oo,o	7,8	1255	1oo,o	2,1	338	1oo,o
1'	12,4	1995	86,2	13,o	2o9o	166,5	2,o	322	95,3
2'	14,2	2285	98,6	12,8	2o6o	164,o	1,9	3o4	9o,4
3'	14,1	227o	97,8	12,6	2o3o	161,5	1,5	242	71,3
4'	13,6	2185	94,3	12,2	1965	156,5	1,4	225	66,8
5'	13,5	217o	93,8	12,1	1945	155,5	2,6	418	123,5
1o'	13,4	216o	94,3	12,o	1935	154,o	1,2	193	57,2
15'	13,4	216o	94,3	17,1	276o	227,o	o,7	112	33,3
2o'	13,2	2125	91,7	8,7	14oo	111,5	o,4	64	19,1
3o'	11,4	1835	79,2	1o,1	1625	129,5	o,3	48	14,3
1°	6,2	995	42,4	2o,8	335o	138,5	1,8	289	85,8
2°	4,2	675	29,1	8,o	1285	1o2,5	o,2	32	9,5

Abb.6:



Für die II. Versuchsreihe erhalten wir im Eichversuch zur Bestimmung der Keimkonzentration:

$2{,}82 \cdot 10^7$ Keime/cm^3 ; 1 M.E.---► $4{,}67 \cdot 10^4$ Keime

und für die III. Versuchsreihe:

$3{,}08 \cdot 10^7$ Keime/cm^3 ; 1 M.E.---► $6{,}49 \cdot 10^4$ Keime.

In Tabelle 9 und Abbildung 7 ist das Ergebnis der II. Versuchsreihe und in Tabelle 10 und Abbildung 8 ist das der III. Versuchsreihe wiedergegeben:

Tabelle 9:

	Cervin			Gottliebsche Lösung			Howesche Lösung		
Zeit	T.W. in M.E.	Kz. 10^3/Ö.	% der A.K.	T.W. in M.E.	Kz. 10^3/Ö.	% der A.K.	T.W. in M.E.	Kz. 10^3/Ö.	% der A.K.
0'	15,4	3600	100,0	10,0	2335	100,0	5,2	1215	100,0
1'	12,5	2980	81,3	8,6	2015	86	3,8	888	73,2
2'	11,4	2665	74,0	14,5	3385	145	3,6	842	69,2
3'	9,8	2285	63,7	12,4	2895	124	3,6	842	69,2
4'	9,5	2220	61,7	8,2	1915	82	3,1	725	59,6
5'	9,0	2110	58,4	11,2	2620	112	2,8	654	53,8
10'	8,3	1940	53,8	16,4	3835	164	4,0	935	76,8
15'	9,8	2285	63,7	14,1	3290	141	2,6	608	50,0
20'	7,5	1755	48,7	9,6	2245	96	2,5	584	48,2
30'	12,4	2895	80,4	15,9	3720	159	5,0	1167	96,2
1°	11,6	2715	75,3	10,2	2380	102	3,2	747	61,5
2°	11,0	2570	71,4	12,0	2815	120	2,8	654	53,8
4°	8,0	1870	51,9	9,8	2285	98	4,0	935	76,8

Tabelle 10:

0'	9,8	3180	100,0	8,8	2860	100,0	5,1	1655	100,0
1'	8,6	2785	87,7	7,6	2465	86,3	4,5	1460	88,2
2'	11,6	3770	118,2	11,2	3635	127,3	3,4	1150	67,7
3'	9,4	3050	95,8	7,8	2530	88,7	4,4	1425	86,2
4'	8,8	2860	89,7	7,8	2530	88,7	4,8	1557	94,1
5'	9,2	2980	93,8	10,6	3440	120,5	4,1	1330	80,3
10'	12,6	4085	128,3	7,6	2465	86,3	3,8	1235	74,5
15'	11,4	3700	116,2	14,2	4615	161,3	3,6	1165	70,6
20'	9,4	3050	95,8	9,5	2760	96,5	3,4	1150	66,7
30'	8,7	2820	88,7	8,2	2630	93,3	3,2	1090	62,7
1°	8,4	2725	85,8	7,8	2530	88,7	3,1	1025	60,8
2°	7,7	2500	78,7	8,2	2630	93,3	3,0	973	58,8
4°	7,4	2400	75,5	11,6	3770	132,0	2,9	942	56,9

Abb. 7:

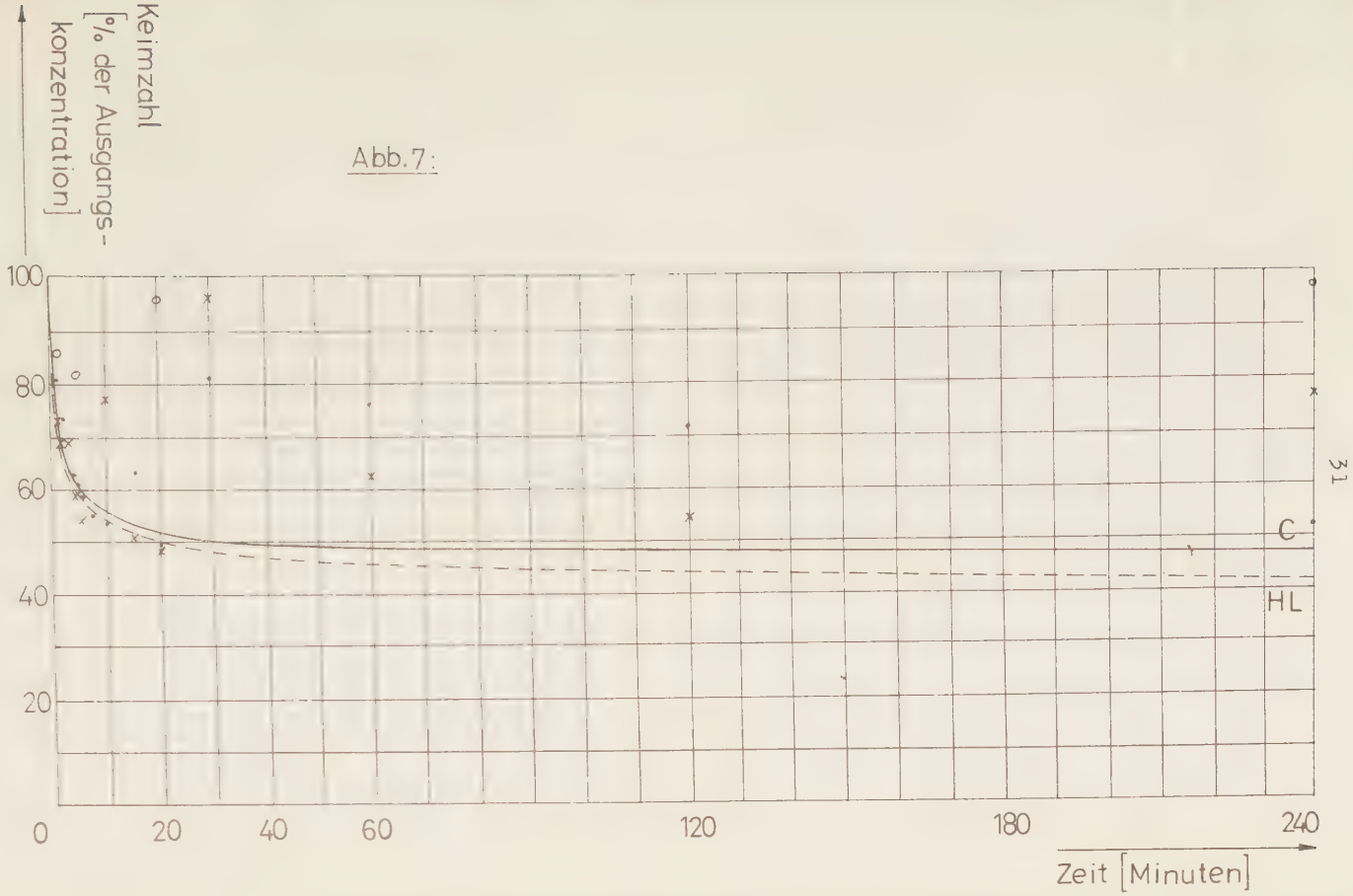
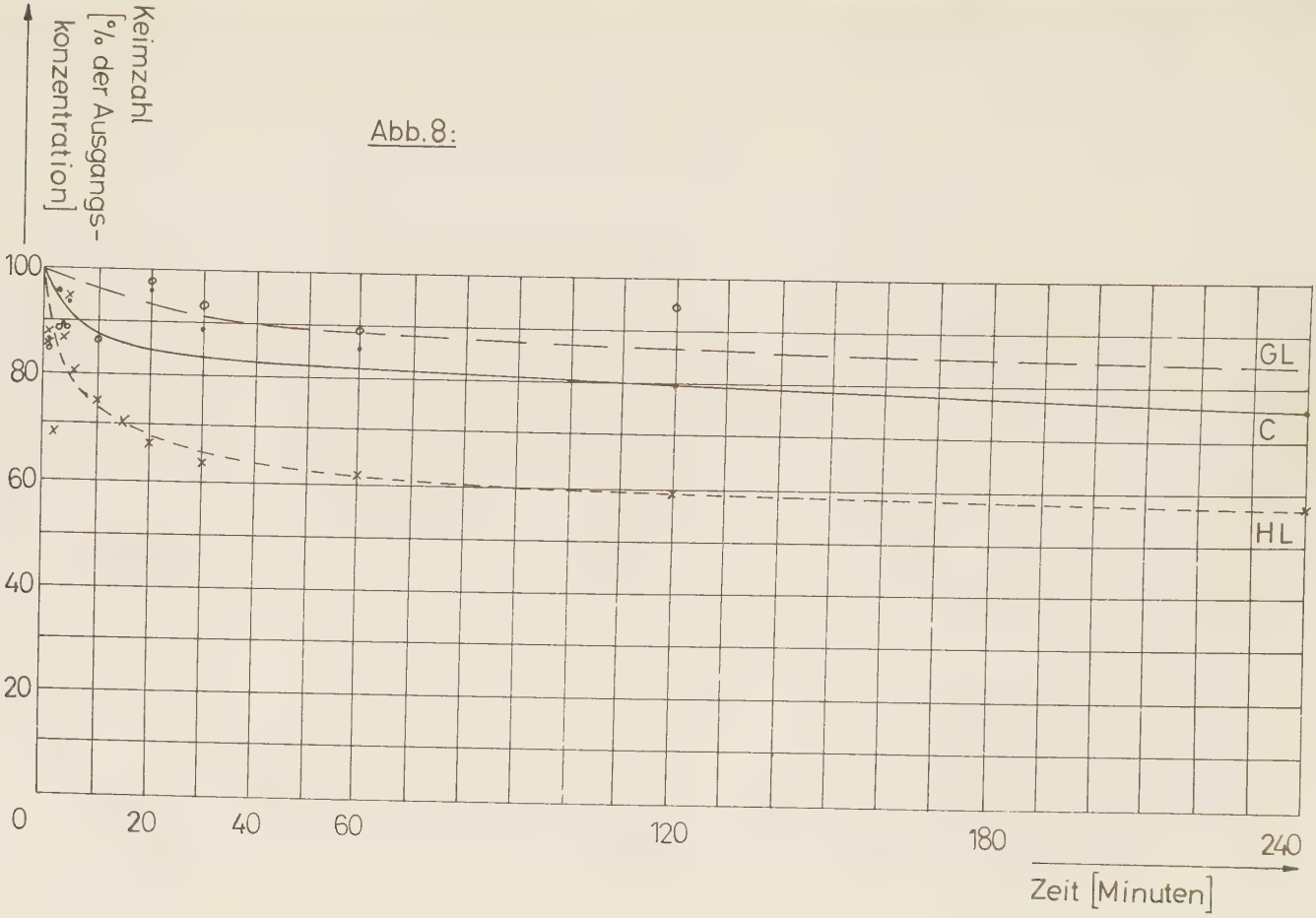

Keimzahl
[% der Ausgangs-
konzentration]
100
80
60
40
20
0
20
40
60
120
180
240
Zeit [Minuten]
C
HL

Abb. 8:


Keimzahl [% der Ausgangs-konzentration]
100
80
60
40
20
0
20
40
60
120
180
240
Zeit [Minuten]
GL
C
HL

Die Auswertung ergibt folgendes Bild:

Aus den Tabellen und Abbildungen der Versuchsreihen I,II,III ersehen wir, daß für jedes gewählte Desinfizienz ein charakteristischer Keimabfall eingetreten ist. Er ist umso stärker, je weniger konzentriert die Bakterienkultur gewählt wird. Für Cervin tritt ein starker Keimabfall (maximal 6o%) zwischen o und 1 Stunde ein und für die Howesche Lösung ein solcher (maximal 8o%) schon zwischen o und 2o Minuten. Für die Gottliebsche Lösung ist kein eindeutiger Abfall zu verzeichnen. Alle drei Versuchsreihen, besonders die beiden letzten, zeigen deutlich, daß die Fällungsprodukte der Gottliebschen Lösung keine desinfizierende Wirkung besitzen. Ferner ersehen wir aus den Tabellen relativ starke Schwankungen in den Werten, deren Ursache unerforscht blieb. Es ist anzunehmen, daß die Reagenzgläser primär nicht steril waren.

Zusammenfassung.

Den in Abschnitt II A angeführten Versuchen liegen zwei Versuchsanordnungen zugrunde. Die Ergebnisse zeigen uns, daß diese Anordnungen nicht ideal sind. Zu einer bestimmten Zeit t_y sollen definierte Mengen der zu untersuchenden Bakterienkultur in Platinösen gemessen zu einer definierten Menge Desinfizienz in cm^3 gemessen gegeben werden. Hier müssen Ungenauigkeiten auftreten, da das Fassungsvermögen ein und derselben Öse von ihrer Einfuhrtiefe und ihrer Ausfuhrgeschwindigkeit abhängig ist. Durch Einhalten einer bestimmten Einfuhrtiefe und Ausfuhrgeschwindigkeit und durch Aufschütteln der Bakterienkultur und Desinfizienz enthaltenden Reagenzgläser vor jeder Entnahme zur gleichmäßigen Verteilung der Keime werden Ungenauigkeiten weitgehend vermieden, jedoch nicht vollständig ausgeschaltet.

II. B. Nephelometrische Untersuchungen mit Hilfe definierter Ionenkonzentrationen.

Um oben genannte Ungenauigkeiten auszuschalten, arbeiten wir ein anderes Verfahren zur Untersuchung der bakteriziden Wirkung von Desinfizientien aus. Hier wird die Bakterienkonzentration nicht in Abhängigkeit von einer Zeit t_v, sondern in Abhängigkeit von definierten Mengen M_m und M_n, d.h. definierten Ionenkonzentrationen des zu untersuchenden Desinfizienz bestimmt. Ferner werden definierte Mengen Flora mit Hilfe von Pipetten und nicht wie bislang mit Hilfe von Ösen zu definierten Mengen der desinfizierenden Substanz gegeben.

Versuchsanordnung III:

Bei dem Verfahren werden in vorbereitete, auf 1o cm^3 geeichte, sterile Reagenzgläser einmal definierte Mengen M_{mC} und M_{mCuC} von Cervin und Cu-Cervin
(m=o%, $1o^{-4}$%, $5 \cdot 1o^{-4}$%, $1o^{-3}$%, $5 \cdot 1o^{-3}$%, $1o^{-2}$%, $5 \cdot 1o^{-2}$%, $1o^{-1}$%, $5 \cdot 1o^{-1}$%, 1%, 1o%; C=Cervin, CuC=Cu-Cervin)
zum anderen definierte Mengen M_{nG} und M_{nH} von Gottliebscher und Howescher Lösung
(n=o%, o,2%, o,5%, 1%, 3%, 5%, 1o%, 2o%, 3o%, 5o%;
G=Gottliebsche Lösung, H=Howesche Lösung)
gebracht. Nach Auffüllen der Röhrchen auf 1oocm^3 mit klarer, steriler Nährlösung (Nr.2 s.S.14) beimpfen wir sie mit einer definierten Menge (o,o5 cm^3) der zu untersuchenden Erreger. Der nach einer Bebrütungszeit von 24 Stunden im Brutschrank bei 37°C mit dem Kolorimeter nach K r ü s s - D u b o s c q gemessene Trübungsgrad ist dann ein Maß für die noch vorhandene Keimkonzentration.

In unseren Versuchen machen wir zur Bestimmung der Keimkonzentration in einer definierten Menge Kultur wieder einen Eichversuch. Als Erregerkulturen wählen wir wiederum den gegenüber chemischen Agentien stark resistenten Bacillus subtilis und eine aus einem kariösen Zahn stammende Mischflora.

Für Cervin und Cu-Cervin entspricht den in Prozenten angegebenen Werten M_m jeweils eine bestimmte SiF_6-Konzentration:

0 % ----→	0,0 γ/cm³	$5 \cdot 10^{-2}$ % ----→	25,7 γ/cm³
10^{-4} % ----→	0,0514 γ/cm³	10^{-1} % ----→	51,4 γ/cm³
$5 \cdot 10^{-4}$ % ----→	0,257 γ/cm³	$5 \cdot 10^{-1}$ % ----→	257,0 γ/cm³
10^{-3} % ----→	0,514 γ/cm³	1 % ----→	514,0 γ/cm³
$5 \cdot 10^{-3}$ % ----→	2,57 γ/cm³	10 % ----→	5140,0 γ/cm³ ,
10^{-2} % ----→	5,14 γ/cm³		

da die Löslichkeit des $MgSiF_6$ in H_2O bei 37°C 5,14 g/100 cm³ ist.

Bei Verwendung der Cu-Cervin-Lösung spielt neben der bakteriziden Wirkung des $MgSiF_6$ die der Kupfer(II)ionen eine Rolle. Dabei entspricht den in Prozenten angegebenen Werten M_m jeweils eine bestimmte $CuSO_4$-Konzentration:

0 % ----→	0,0 γ/cm³	$5 \cdot 10^{-2}$ % ----→	140,0 γ/cm³
10^{-4} % ----→	0,28 γ/cm³	10^{-1} % ----→	280,0 γ/cm³
$5 \cdot 10^{-4}$ % ----→	1,4 γ/cm³	$5 \cdot 10^{-1}$ % ----→	1400,0 γ/cm³
10^{-3} % ----→	2,8 γ/cm³	1 % ----→	2800,0 γ/cm³
$5 \cdot 10^{-3}$ % ----→	14,0 γ/cm³	10 % ----→	28000,0 γ/cm³ ,
10^{-2} % ----→	28,0 γ/cm³		

da die Löslichkeit des Kupfersulfats in H_2O bei 37°C 28 g/100 cm³ beträgt.

Für die Howesche Lösung erhalten wir folgende, den Werten M_n entsprechende Ag-Konzentrationen:

0 % ----→	0,0 γ/cm³	10 % ----→	3,0 γ/cm³
0,2 % ----→	0,06 γ/cm³	20 % ----→	6,0 γ/cm³
0,5 % ----→	0,15 γ/cm³	30 % ----→	9,0 γ/cm³
1 % ----→	0,3 γ/cm³	50 % ----→	15,0 γ/cm³
3 % ----→	0,9 γ/cm³	100 % ----→	30,0 γ/cm³ ,
5 % ----→	1,5 γ/cm³		

da die Löslichkeit des Ag_2O in H_2O bei 37°C $3 \cdot 10^{-3}$ g/100 cm³ beträgt.

Es folgen die Versuche:

a) Bacillus subtilis:

Im Eichversuch erhalten wir:

$1{,}37 \cdot 10^6$ Keime/cm^3 ; 1 M.E. ---► $1{,}18 \cdot 10^4$ Keime.

Tabelle 11 und Abbildung 9 zeigen die Bakterienkonzentration in Prozenten der Ausgangskonzentration in Abhängigkeit von der Ionenkonzentration des jeweiligen Desinfizienz.

b) Mischflora:

Als zweite Art von Testmikroben wählen wir eine aus einem kariösen Zahn stammende Kariesmischflora, die wir

1) in einer $MnSO_4$ freien Nährlösung (Nr.2 s.S.14) und

2) in einer $MnSO_4$ haltigen Nährlösung (Nr.5s.S.15)

heranzüchten.

Der Eichversuch liefert:

$2{,}65 \cdot 10^7$ Keime/cm^3 ; 1 M.E. ---► $4{,}08 \cdot 10^4$ Keime.

Tabellen 12 und 13 und Abbildungen 10 und 11 zeigen die Bakterienkonzentration in Prozenten der Ausgangskonzentration in Abhängigkeit von der Ionenkonzentration des jeweiligen Desinfizienz.

Es folgen nun die unter II.B. a) und b) angegebenen Tabellen und Abbildungen. Daran schließt sich deren Auswertung an.

Tabelle 11 — a) Bac. subt. für Cervin:

D. in %	Konz. SiF_6 γ/cm^3	T.W. in M.E.	% der A.K.
0_{-4}	0	17,4	100,0
10_{-4}	0,0514	16,9	97,1
$5 \cdot 10_{-3}$	0,257	16,5	94,8
10_{-3}	0,514	15,9	91,3
$5 \cdot 10_{-2}$	2,57	15,6	89,7
10_{-2}	5,14	14,9	85,7
$5 \cdot 10_{-1}$	25,7	14,5	83,3
10_{-1}	51,4	14,3	82,2
$5 \cdot 10_{-1}$	257,0	4,7	27,1
1	514,0	4,1	23,6
10	5140,0	4,1	23,6

Tabelle 12 — b) Mischflora in 1) $MnSO_4$ freier NL.

D. in %	T.W. in M.E.	% der A.K.
0_{-4}	19,6	100,0
10_{-4}	14,4	73,5
$5 \cdot 10_{-3}$	10,6	54,1
10_{-3}	10,2	52,0
$5 \cdot 10_{-2}$	9,2	46,9
10_{-2}	8,5	43,4
$5 \cdot 10_{-1}$	8,2	41,8
10_{-1}	4,0	20,4
$5 \cdot 10_{-1}$	3,8	19,5
1	3,6	18,4
10	3,6	18,4

Tabelle 13 — 2) $MnSO_4$ haltiger NL.

D. in %	T.W. in M.E.	% der A.K.
0_{-4}	15,4	100,0
10_{-4}	15,3	99,3
$5 \cdot 10_{-3}$	14,4	93,4
10_{-3}	11,7	76,1
$5 \cdot 10_{-2}$	8,4	54,6
10_{-2}	6,5	42,2
$5 \cdot 10_{-1}$	4,5	29,2
10_{-1}	3,9	25,3
$5 \cdot 10_{-1}$	3,6	23,4
1	3,3	21,4
10	2,9	18,8

NL.=Nährlösung , D.=Desinfizienz , Konz.=Konzentration

Fortsetzung der

		Tabelle 11		Tabelle 12		Tabelle 13	
für Cu-Cervin:		a) Bac. subt.		b) Mischflora in 1) $MnSO_4$ freier NL.		2) $MnSO_4$ haltiger NL.	
D. in %	Konz. SiF_6 $CuSO_4$ γ/cm^3	T.W. in M.E.	% der A.K.	T.W. in M.E.	% der A.K.	T.W. in M.E.	% der A.K.
o	o	12,6	loo,o	13,8	loo,o	11,5	loo,o
$1o^{-4}$	o,o514 o,28	12,2	96,8	13,2	95,8	1o,8	93,8
$5\cdot1o^{-4}$	o,257 1,4	11,8	93,7	12,6	91,4	8,7	75,6
$1o^{-3}$	o,514 2,8	11,6	92,1	1o,7	77,6	8,2	71,3
$5\cdot1o^{-3}$	2,57 14,o	1o,5	83,3	1o,o	73,6	7,6	66,o
$1o^{-2}$	5,14 28,o	1o,7	84,8	9,6	69,6	5,5	47,8
$5\cdot1o^{-2}$	25,7 14o,o	8,2	65,o	7,4	53,7	5,2	45,2
$1o^{-1}$	51,4 28o,o	7,3	57,6	4,1	29,5	4,7	4o,8
$5\cdot1o^{-1}$	257,o 14oo,o	5,o	39,7	2,9	21,1	3,1	26,9
1	514,o 28oo,o	4,6	36,6	2,5	18,1	2,4	2o,8
1o	514o,o 28ooo,o	4,o	31,7	2,1	15,2	2,2	19,1

für Howesche Lösung:

D. in %	Konz. Ag γ/cm^3	T.W. in M.E.	% der A.K.	T.W. in M.E.	% der A.K.	T.W. in M.E.	% der A.K.
o	o	11,6	loo,o	9,4	loo,o	1o,4	loo,o
o,2	o,o6	1o,4	89,7	7,2	76,6	9,7	93,3
o,5	o,15	7,5	64,6	3,8	4o,4	5,7	54,8
1	o,3	9,2	79,3	3,6	38,3	4,6	44,3
3	o,9	7,4	62,1	3,2	34,1	2,9	27,9
5	1,5	5,2	44,9	3,1	33,o	2,6	25,o
1o	3,o	4,9	42,2	2,7	28,7	2,5	24,1
2o	6,o	4,6	39,7	2,6	27,7	2,4	23,1
3o	9,o	4,2	36,2	2,3	24,4	2,4	23,1
5o	15,o	4,2	36,2	2,2	23,4	2,4	23,1

Fortsetzung der Tabelle 11 a) Bacillus subtilis:

für Gottliebsche Lösung:

D. in %	o,o	o,2	o,5	1,o	3,o	5,o	1o,o	2o,o	3o,o	5o,o
T.W. in M.E.	18,4	18,o	17,8	2o,o	17,1	18,4	18,4	19,6	19,5	18,6

Da in diesem Versuch wie auch in früheren die Gottliebsche Lösung keinerlei desinfizierende Wirkung zeigt, wird in den Versuchen mit Mischflora auf die Untersuchung der Lösung bezüglich ihrer bakteriziden Wirkung verzichtet.

Die Auswertung voranstehender Tabellen und nachfolgender Abbildungen ergibt folgendes Ergebnis:

Aus der Tabelle 11 und dem Kurvenverlauf der Abbildung 9 ist ersichtlich, daß nach einer SiF_6-Konzentration von 514o,o γ/cm^3 für Cervin und Cu-Cervin die Wachstumsnemmung sich stark ihrem Grenzwert genähert hat. Im Cu-Cervin hemmen neben den SiF_6-Ionen zusätzlich noch die Cu(II)ionen des $CuSO_4$. Der größte Keimabfall für Cervin liegt bei einer SiF_6-Konzentration (SiF_6-K):

$$51,4 \leqq SiF_6\text{-K} \leqq 257\ \gamma/cm^3 \quad ,$$

während er für Cu-Cervin bei einer (SiF_6+Cu)-Konzentration ((SiF_6+Cu)-K):

$$5,14 \leqq (SiF_6+Cu)\text{-K} \leqq 257\ \gamma/cm^3$$

liegt. Im Versuch mit der Howeschen Lösung strebt die Wachstumshemmung bei einer Ag-Konzentration von 15 γ/cm^3 ebenfalls einem Grenzwert zu. Ein starker Keimabfall ist bei einer Ag-Konzentration (Ag-K):

$$o,3 \leqq \text{Ag-K} \leqq 3\ \gamma/cm^3$$

zu verzeichnen. Die Gottliebsche Lösung ist nochmals berücksichtigt worden, jedoch ohne Auswertung, da sie eine bakterizide Wirkung nicht besitzt. Dies ist schon in früheren Versuchen erkannt worden.

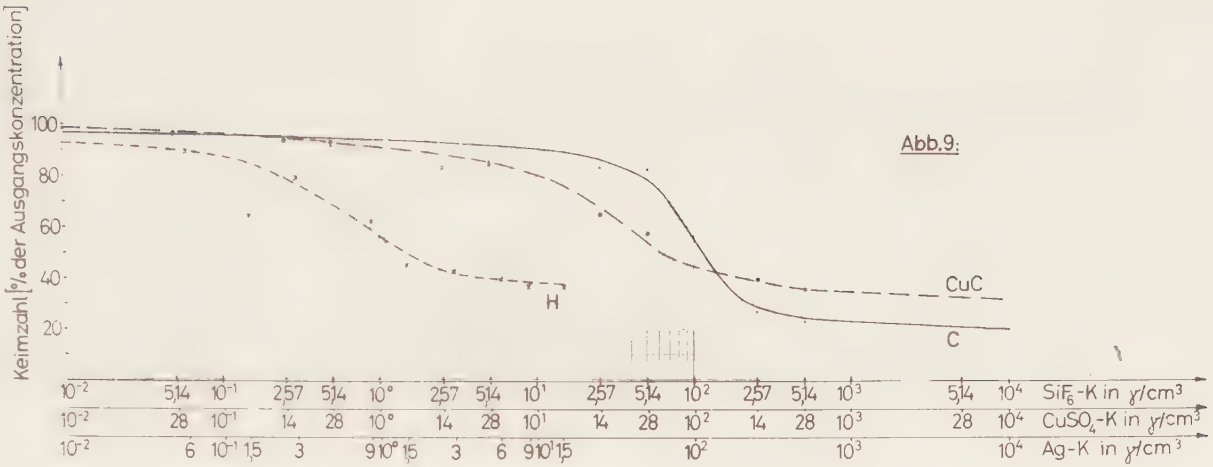

Keimzahl [% der Ausgangskonzentration]
100
80
60
40
20
H
CuC
C
10⁻² 5,14 10⁻¹ 2,57 5,14 10° 2,57 5,14 10¹ 2,57 5,14 10² 2,57 5,14 10³ 5,14 10⁴ SiF6-K in γ/cm³
10⁻² 28 10⁻¹ 14 28 10° 14 28 10¹ 14 28 10² 14 28 10³ 28 10⁴ CuSO4-K in γ/cm³
10⁻² 6 10⁻¹ 1,5 3 9 10° 1,5 3 6 9 10¹ 1,5 10² 10³ 10⁴ Ag-K in γ/cm³

Abb.9:

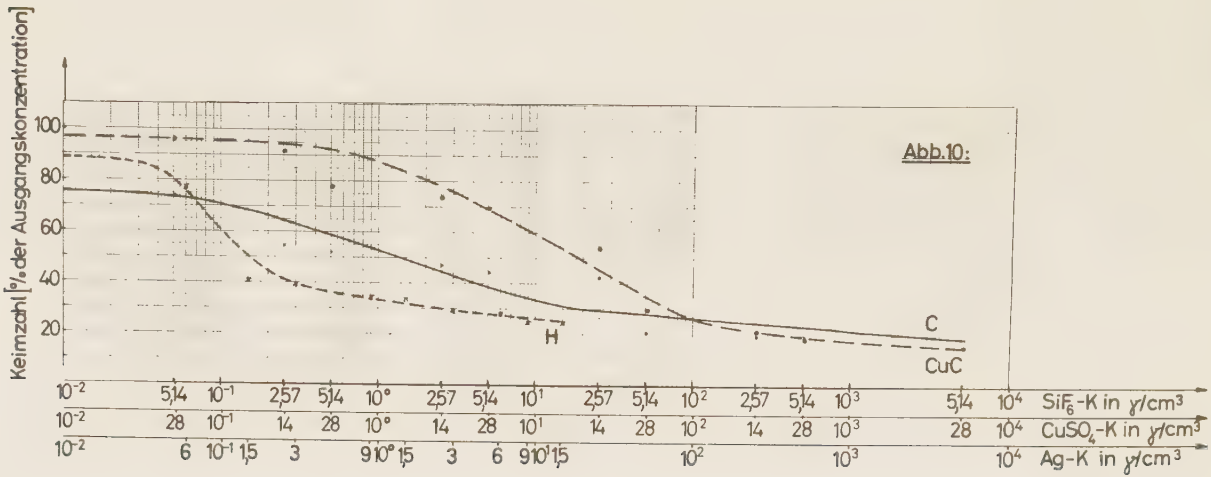

Keimzahl [% der Ausgangskonzentration]
100
80
60
40
20
C
CuC
H
10⁻² 5,14 10⁻¹ 2,57 5,14 10° 2,57 5,14 10¹ 2,57 5,14 10² 2,57 5,14 10³ 5,14 10⁴ SiF₆-K in g/cm³
10⁻² 28 10⁻¹ 14 28 10° 14 28 10¹ 14 28 10² 14 28 10³ 28 10⁴ CuSO₄-K in g/cm³
10⁻² 6 10⁻¹ 1,5 3 9 10° 1,5 3 6 9 10¹ 1,5 10² 10³ 10⁴ Ag-K in g/cm³

Abb.10:

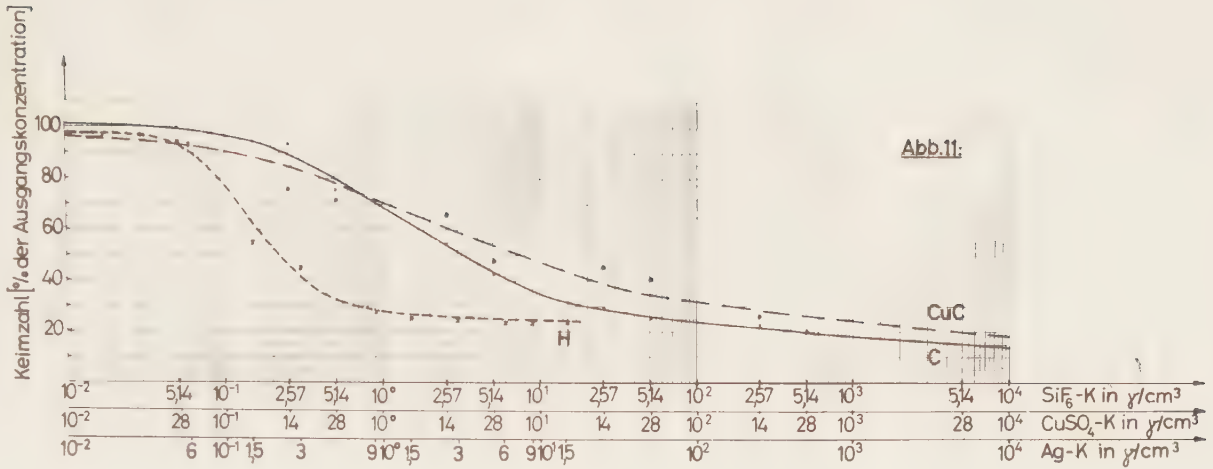

Keimzahl [% der Ausgangskonzentration]
100
80
60
40
20
H
CuC
C
10⁻² 5,14 10⁻¹ 2,57 5,14 10° 2,57 5,14 10¹ 2,57 5,14 10² 2,57 5,14 10³ 5,14 10⁴ SiF₆-K in g/cm³
10⁻² 28 10⁻¹ 14 28 10° 14 28 10¹ 14 28 10² 14 28 10³ 28 10⁴ CuSO₄-K in g/cm³
10⁻² 6 10⁻¹ 1,5 3 9 10° 1,5 3 6 9 10¹ 1,5 10² 10³ 10⁴ Ag-K in g/cm³

Abb.11:

In sämtlichen Versuchen mit Mischflora (Tabellen 12,13 und Abbildungen 10,11) strebt die Wachstumshemmung der Flora einem Grenzwert zu. In den mit $MnSO_4$-haltiger Nährlösung angesetzten Versuchen sind für Cervin und Cu-Cervin die Werte für die Keimkonzentration bei gleicher Ausgangskonzentration und entsprechenden Ionenkonzentrationen des Desinfizienz kleiner als jene in den mit $MnSO_4$-freier Nährlösung angesetzten Versuchen, während wir für die Howesche Lösung gerade das umgekehrte Ergebnis erhalten. Bezüglich des Cervins und des Cu-Cervins erhalten wir bei einer SiF_6- bzw. $(Cu+SiF_6)$-Konzentration:

$$0{,}25 \leqq SiF_6\text{- bzw. } (SiF_6+Cu)\text{-K} \leqq 51{,}4\ \gamma/cm^3$$

einen starken Keimabfall und bezüglich der Howeschen Lösung einen solchen bei einer Ag-Konzentration (Ag-K):

$$0{,}06 \leqq \text{Ag-K} \leqq 0{,}3\ \gamma/cm^3$$

um maximal 50%. Der Keimabfall bei den übrigen Konzentrationen der Desinfizientien erfolgt überall kontinuierlich.

Zusammenfassung.

Durch die Methode, die Keimkonzentration in Beziehung zu der Ionenkonzentration des jeweiligen Desinfizienz zu bringen, erzielen wir in Abschnitt II B brauchbare Ergebnisse. Bei gleichen γ-Konzentrationen $/cm^3$ der Touchierungslösungen steht die Howesche Lösung in Bezug auf ihre bakterizide Wirkung an erster Stelle, während die Cu-Cervin-Lösung nur wenig mehr bakterizid als die Cervin-Lösung wirkt. Die im Vergleich zum Cu-Cervin bemerkenswert gute Wirksamkeit des Cervins ist wahrscheinlich dadurch gegeben, daß auch Cervin einen merklichen Cu-Gehalt besitzt.

III. Experimenteller Teil II.

Das Stiftelement und seine bakterizide Wirkungsweise.

Den im experimentellen Teil I angeführten Desinfizientien wird nun im experimentellen Teil II die Wirkungsweise eines Stiftelements gegenüber gestellt.

Theorie:

Ein aus zwei verschiedenen zusammengelöteten Metallen bestehendes Stiftelement, das in eine Elektrolytlösung, z.B. physiologische Kochsalzlösung getaucht wird, stellt ein galvanisches Element im kurzgeschlossenem Zustand dar. Durch das Element fließt ein Strom, der durch die an den Elektrodenoberflächen entstehenden Helmholtz'schen Doppelschichten getrieben wird. Dieser Strom übt elektrolytische Wirkungen an den Drahtelektroden aus. Die edle Elektrode des Stiftelements wird in den Wurzelkanal des Zahnes eingeführt und der aus der Kavität herausragende Teil der Elektrode nebst der Lötstelle mit Paraffin abgedichtet, während die unedle Elektrode sich außerhalb des Wurzelkanals in der Mundhöhle befindet. Der Strom tritt aus der unedlen Elektrode aus, durchsetzt den Kiefer und tritt über das apicale Delta in den Wurzelkanal ein, um von der edlen Elektrode wieder aufgenommen zu werden. Die unedle Elektrode löst sich dabei langsam auf. Sie darf nur aus einem Metall bestehen, das physiologisch hinreichend verträglich ist. Hierfür kommt reinstes Aluminium oder Zink in Frage. Die edle Elektrode soll eine genügende elektromotorische Kraft gewährleisten. Palladium und Silber erfüllen diese Forderung (16). Für Kupfer soll dies in den folgenden Abschnitten untersucht werden.

In unseren Versuchsreihen werden wir das Cu-Zn-Element untersuchen, das sowohl in Plattenkulturen als auch in frisch extrahierte, gangränöse Zähne eingepflanztwerden wird. Dabei interessieren uns die Verhältnisse an der unedlen Zn-Elektrode

nicht; wohl aber müssen wir jene an der edlen Cu-Elektrode, z.B. im Wurzelkanal, beachten:

Die wenigen aus dem Elektrolyt, z.B. aus der neutralen, physiologischen Kochsalzlösung, stammenden H-Ionen werden an der edlen Cu-Elektrode entladen, und es entsteht gasförmiger Wasserstoff, der zu unerwünschten Drucksteigerungen im Wurzelkanal führen könnte. Die Entladung der H-Ionen ist die Ursache für das Auftreten eines OH-Ionenüberschusses an der Kathode, da die Konzentration beider durch die Dissoziationskonstante des Wassers von der Größenordnung 10^{-14} bestimmt wird:

$$C_H \cdot C_{OH} = 10^{-14} \quad .$$

Die Menge des entstehenden gasförmigen Wasserstoffs ist durch die Strommenge, die durch das Element fließt, gegeben. Der Wasserstoff muß abgefangen werden. Dies geschieht durch Depolarisation. Zu diesem Zweck hat K n a p p w o s t die edle Elektrode des Stiftelements bräuniert. Als Bräunierungsmasse wählen wir ein Gemisch aus Kupfer(II)oxyd CuO (9/10) und Magnesiumchlorid $MgCl_2$ (1/10). Bei der Elektrolyse reagiert das Kupferoxyd mit dem gasförmigen Wasserstoff unter Bildung von Kupfer:

$$CuO + H_2 \dashrightarrow Cu + H_2O \quad .$$

Wirksam sind neben den OH-Ionen die Cu-Ionen, die bei Berührung von metallischem Kupfer mit wässriger Lösung frei werden und den bakterienfreien Hof im Plattenbebrütungsversuch hervorrufen. Es kommt nun bei unseren Versuchen darauf an, den entladenen gasförmigen Wasserstoff restlos abzufangen, d.h. es muß stets ein CuO-Überschuß vorhanden sein, damit sich genügend Cu-Ionen bilden können, die die dauerhafte Desinfektionsleistung bewirken. Der Vorrat an CuO in der Bräunierungsmasse ist nach wenigen Tagen erschöpft. Deshalb ist es notwendig, ein Depot von CuO um die edle Elektrode anzulegen. Für unsere Versuche wählen wir folgende CuO-haltige Depotpasten aus:
1) CuO + $Ca(OH)_2$, die sowohl Cu- als auch OH-Ionen enthält, und
2) CuO + Cu-Reogan, wobei der Kupfer(II)hydroxyd-Zusatz im Cu-Reogan die bakterizide Wirkung des CuO unterstützen wird.
Diesen beiden Pasten wird eine kupferfreie, OH-Ionen haltige Depotpaste, nämlich Calciumhydroxyd $Ca(OH)_2$, gegenübergestellt werden.

III. C. Untersuchung der Hofbildung um das Stiftelement im Plattenverfahren.

Unser Stiftelement besteht wie oben (s.S.43) angeführt aus den zwei verschiedenen Metallen Kupfer und Zink. Einen dünnen 2,5 cm langen Draht von Kupfer und einen eben solchen aus Zink verlöten wir miteinander. Zur Depolarisation wird die edle Elektrode, also die Cu-Elektrode, mit einem Gemisch aus Magnesiumchlorid $MgCl_2$ (1/1o) und Kupfer(II)oxyd CuO (9/1o) bräuniert. Zur Isolierung wird dann die Lötstelle mit Chlorkautschuklack abgedichtet.

Mit solch einem Stiftelement werden nun verschiedene Versuchsreihen angesetzt, die nachstehend beschrieben werden.

Methodik:

Ganz allgemein wird dabei folgendermaßen vorgegangen: Unter sterilen Bedingungen wird ein Element mit oder ohne Mantel in einen für eine definierte Menge Keimflora spezifischen als Elektrolyt wirkenden Nährboden auf einer Petrischale eingepflanzt. Die Platte wird anschließend oder erst nach Stunden für Stunden bzw. für Tage bebrutet. Dabei kann sich ein keimfreier Hof konzentrisch um die edle Elektrode bilden, der untersucht und ausgewertet werden soll.

Bakterienkulturen.

Als Bakterienflora wird einmal orale, aerobe Mischflora (s.S.17), die aus dem Sputum und von Zahnbelägen gewonnen wird, zum andern eine gegenüber chemischen und physikalischen Einwirkungen wesentlich resistentere Bakterienart, nämlich Bacillus subtilis (s.S.17) verwendet.

Nährmedien.

Die Bakterienkulturen werden in geeigneten nachstehend angeführten Medien über Nährbodenpassagen herangezüchtet.

Für die orale, aerobe Mischflora wird eine Nährlösung und ein Nährboden folgender Zusammensetzung bei einem p_H=7,2 verwendet:

1) Nährlösung:

Aqua destillata	1000,0 cm^3
Pepton (Witte)	10,0 g
Dextrose	10,0 g
Liebigs Fleischextrakt	10,0 g
NaCl p.A.	3,0 g
K_2HPO_4	0,1 g
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0,2 g

2) Nähragar:

Aqua destillata	1000,0 cm^3
Pepton (Witte)	10,0 g
Dextrose	20,0 g
Liebigs Fleischextrakt	10,0 g
Agar-Agar	25,0 g
NaCl p.A.	5,0 g
Na_2HPO_4	3,0 g
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	1,0 g

Auch für Bacillus subtilis wird eine spezifische Nährlösung und ein spezifischer Nähragar bei einem p_H=7,2 verwendet:

1) Nährlösung:

Aqua destillata	1000,0 cm^3
Pepton (Witte)	10,0 g
Liebigs Fleischextrakt	10,0 g
NaCl p.A.	3,0 g
K_2HPO_4	0,1 g
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0,2 g

2) Nähragar:

Aqua destillata	1000,0 cm^3
Pepton (Witte)	10,0 g
Liebigs Fleischextrakt	10,0 g
NaCl p.A.	3,0 g
K_2HPO_4	0,1 g
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0,2 g
Agar-Agar	25,0 g

Die Herstellung der Nährmedien erfolgt nach den Anweisungen, die im experimentellen Teil I, Nährmedien (s.S.14ff) angegeben sind.

Die Plattenkulturen werden folgendermaßen hergestellt: Flüssiger, nicht über 50°C erwärmter, für die Bakterienart spezifischer, steriler Nähragar wird mit einer definierten Menge Flora in einer sterilen Petrischale gleichmäßig beschickt. Bei seiner Erkaltung erstarrt er. In diesen Nährboden pflanzen wir
1) ein mantelloses Element und
2) ein von einem Mantel umgebenes Element ein.

Anschließend findet die Bebrütung statt und die Bildung des keimfreien Hofes um die edle Cu-Elektrode wird beobachtet.

a) I. Versuchsreihe:

Bräunierter Cu-Draht ohne Mantel (ohne Strom):

aa) Methodik:

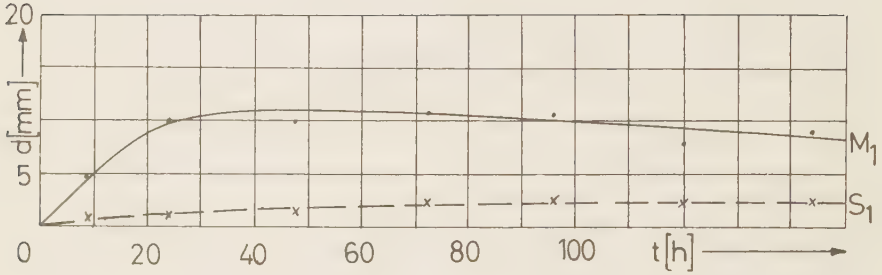
Zur Klärung der Frage, ob sich auch um einen einfachen Cu-Draht ein bakterienfreier Hof bildet, wird folgender Versuch angesetzt:
Eine Reihe von Petrischalen beschicken wir jeweils mit einem auf die Bakterienart abgestimmten Nähragar und einer bestimmten Menge Flora (orale, aerobe Mischflora und Baoillus subtilis). In dieses Medium führen wir nun einen 2,5 cm langen, bräunierten Cu-Draht in die Mitte der Platte ein und bebrüten die Platte bei einer Temperatur von 37°C im Brutschrank.

Wir beobachten, daß sich eine keimfreie Zone (Beweis durch Ausstrichpräparat mittels Gramfärbung) konzentrisch um den Kupferdraht bildet. Ihren Durchmesser d werden wir regelmäßig in gewissen Zeitabständen bestimmen.

bb) Meßergebnisse über den Durchmesser d des keimfreien Hofes beim bräunierten Kupferdraht:

Zeit [h]	d [mm] für MF.(M_1)	d [mm] für B.s.(S_1)
9	4,8	o,4
24	9,8	o,9
48	lo,o	1,4
72	lo,5	2,o
96	lo,5	2,2
12o	7,7	2,2
144	9,o	2,2

Abb.12:



Vgl. Abbildungen 22 und 23 auf Seite 68.

oo) Auswertung:

Das Maximum der Hofbildung wird erreicht für orale, aerobe Mischflora nach 72 Stunden und für Bacillus subtilis nach 96 Stunden. Bezüglich der Mischflora ist nach 96 Stunden ein geringer Rückgang des Hofdurchmessers zu verzeichnen.

Sowohl in diesem Versuch als auch in allen folgenden erscheint die orale, aerobe Mischflora gegenüber Cu-Ionen weniger resistent als der Bacillus subtilis. Der größere keimfreie Hof für orale, aerobe Mischflora kann aber auch an der Säureproduktion dieser Flora liegen.

In den folgenden Versuchsreihen werden ausschließlich nur nooh Cu-Zn-Elemente verwendet.

b) 2. Versuchsreihe:

Stromdurchflossenes, bräuniertes Cu-Zn-Element ohne Mantel:

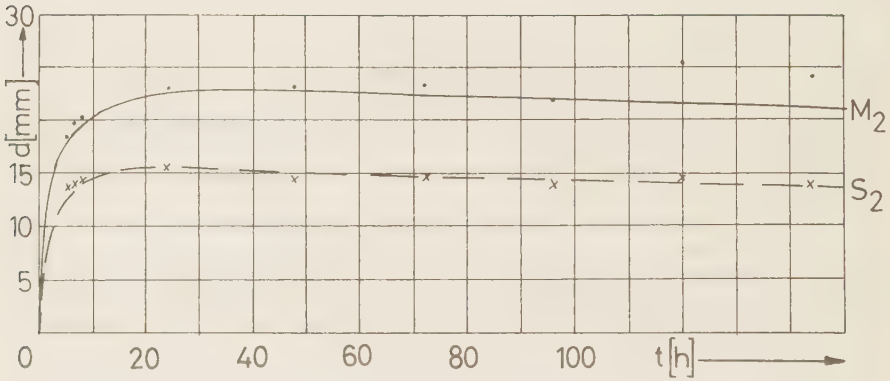
aa) Methodik:

Je ein bräuniertes Element pflanzen wir in je eine mit Flora beschickte Nähragarplatte ein. Ansohließend werden die Platten im Brutschrank bei einer Temperatur von 37°C bebrütet. Hier beobachten wir, daß nicht nur um die edle Cu-Elektrode, sondern auch um die unedle Zn-Elektrode sich ein keimfreier Hof bildet. Wir interessieren uns hier jedoch nur für die Vorgänge an der edlen Cu-Elektrode, da nur sie für uns von Bedeutung sind. Nach gewissen Zeiten in Stunden gemessen wird der Durchmesser des keimfreien Hofes in Millimetern ausgemessen. Er ist ein Maß für die desinfizierende Kraft der Cu- und der OH-Ionen auf die Bakterienflora der Platte. Das mit Hilfe der Gramfärbung gewonnene Ausstrichpräparat beweist die Keimfreiheit innerhalb dieser Zone.

bb) Meßergebnisse über den Durchmesser d des keimfreien Hofes:

Zeit [h]	d [mm] für MF.(M_2)	d [mm] für B.s.(S_2)
6	18,3	13,8
7	19,6	13,9
8	2o,5	14,o
24	22,7	15,4
48	22,9	14,3
72	23,o	14,6
96	21,6	13,6
12o	25,1	14,4
144	23,7	13,8
168	23,8	14,o
192	22,4	13,9

Abb.13:



Vgl. Abbildungen 24 a)-k), 25 a), b) und 26 a), b) auf den Seiten 69 - 73.

cc) Auswertung:

Aus den Werten der Tabelle geht hervor, daß auch in diesem Versuch mehr Bakterien der Mischkultur als der Reinkultur von Bacillus subtilis abgetötet werden . Bei der Versuchsreihe mit Mischflora können wir schon nach einer Zeit von 6 Stunden einen keimfreien Hof von einem Durchmesser von 18,3 mm feststellen, der immer größer wird bis er nach 12o Stunden sein Maximum erreicht, während in der Versuchsreihe, in der als Testmikrobe der Bacillus subtilis gewählt ist, das Maximum schon bei 24 Stunden liegt. Infolge Keimeinwanderung aus dem Grenzbezirk in die keimfreie Zone wird der Durchmesser des keimfreien Hofes kleiner.

Vergleichen wir die beiden Versuchsreihen miteinander, so ist ganz klar zu erkennen, daß die Wirkung beim stromdurchflossenen Cu-Zn-Element bedeutend stärker ist als beim stromlosen Cu-Draht.

Um den Bedingungen im Wurzelkanal näher zu kommen, wird nun ein Mantel aus Glas oder Papier um die edle Cu-Elektrode derart angebracht, daß das bräunierte Ende der Cu-Elektrode ganz von ihm umhüllt ist. Die der Lötstelle des Elements zugelegene Öffnung des Mantels dichten wir mit Paraffin ab, während das äußere Ende offen bleibt, damit durch die Öffnung hindurch der Strom fließen kann, d.h. damit eine Cu- bzw. OH-Ionophorese stattfinden kann. Der Mantel wird nun mit je einer der folgenden, ein Ionendepot darstellenden Pasten angefüllt, die eine erhöhte Cu-Ionen-bzw. OH-Ionenproduktion garantieren:

1) $Ca(OH)_2$,
2) ein Gemisch aus $Ca(OH)_2$ und CuO im Verhältnis 1:1 ,
3) ein Gemisch aus Cu-Reogan (alkalisches Calcium-Magnesium-Caseinat mit Cu(II)hydroxydzusatz) und CuO im Verhältnis 1:1.

Die Depotpasten werden in den nun folgenden Versuchsreihen auf ihre hinsichtlich der Bakterizidie verstärkende Wirkung untersucht.

Als Mantel wird zunächst ein dünnes, selbstgeblasenes Glasröhrchen gewählt. Nun ist aber in einem Wurzelkanal das Element und seine umgebende Depotpaste nicht von einem undurchlässigem Medium wie Glas umgeben, sondern es steckt frei im gangränösen Wurzelkanal. Andererseits können wir aus technischen Gründen ein von einer Paste ihrer weichen Konsistenz wegen umgebenes Element nicht in einen Nährboden einpflanzen. Deshalb umgeben wir solch ein mit Depotpaste umgebenes Element mit einem dünnen Filtrierpapierröhrchen, das nach allen Seiten für Ionen durchlässig ist. Jedoch wird das Papierröhrchen ebenfalls wie das Glasröhrchen an oberen Ende in Richtung der Lötstelle des Elements zu mit Paraffin abgedichtet.

c) 3. Versuchsreihe:

Stromdurchflossenes, bräuniertes Cu-Zn-Element umgeben von einem mit $Ca(OH)_2$ angefüllten Mantel aus Glas:

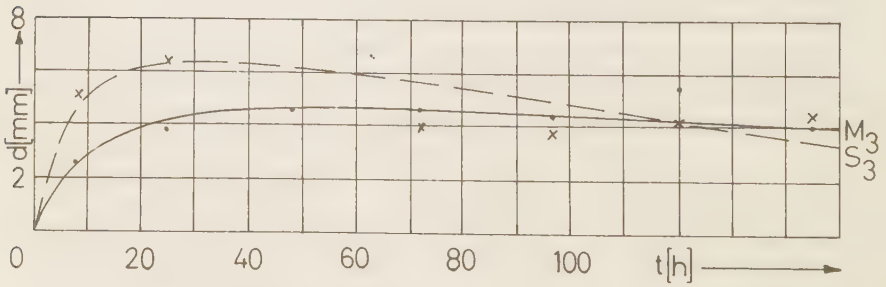
aa) Methodik:

Als Kulturen verwenden wir wieder eine orale, aerobe Mischflora und den Bacillus subtilis. Je ein von einem mit $Ca(OH)_2$ angefüllten Glasmantel umgebenes Cu-Zn-Element wird in je eine definierte Plattenkultur eingepflanzt. Sofort anschließend werden die Platten im Brutschrank bei einer Temperatur von 37°C bebrütet. Nach den Zeiten t [h] bestimmen wir den Hofdurchmesser um die edle Cu-Elektrode.

bb) Meßergebnisse über den Durchmesser d des keimfreien Hofes:

Zeit [h]	d [mm] für MF.(M_3)	d [mm] für B.s.(S_3)
8	2,5	4,9
24	3,8	6,2
48	4,4	
72	4,7	4,o
96	4,4	3,8
12o	5,4	4,1
144	4,o	4,4

Abb.14:



Vgl. Abbildungen 27 und 28 auf den Seiten 73 und 74.

cc) Auswertung:

Auffallend sind die allgemein niederen Versuchswerte, die wir hier erhalten. Die Ursache ist in der Tatsache zu suchen, daß jedes Element von einem auch für Ionen undurchlässigen Mantel umgeben ist. Nur durch seine untere punktförmige Öffnung - die obere ist mit Paraffin abgedichtet- erfolgt der Ionendurchtritt. Die Ionen erreichen in viel geringerer Konzentration die Plattenoberfläche, da die elektrische Feldstärke mit dem Abstand abfällt. Für die Mischflora läßt die Wirkung bei einer Zeit von 144 Stunden nach, während sie für Bacillus subtilis schon bei 48 Stunden zurückgeht.

In sämtlichen der bis jetzt unter Abschnitt III C beschriebenen Versuchen sind die Plattenkulturen sofort nach Einsetzen der Stiftelemente bebrütet worden.

Es war noch zu klären, ob eine vorhergehende Unterkühlung der mit Stiftelementen besetzten Petrischalen einen Einfluß auf das Bakterienwachstum bzw. auf die Hofbildung hat. Die Versuchsreihen 8 und 9 geben hierüber Aufschluß:

d) 4. Versuchsreihe:

Stromdurchflossenes, bräuniertes Cu-Zn-Element umgeben von einem mit CuO und $Ca(OH)_2$ angefüllten Mantel aus Glas:

aa) Methodik:

Sie ist dieselbe wie unter III C c).

bb) Meßergebnisse über den Durchmesser d des keimfreien Hofes:

Zeit [h]	d [mm] für MF.(M_4)	d [mm] für B.s.(S_4)
8	2,9	6,3
24	3,9	7,2
48	5,o	5,4
72	5,3	4,4
96	5,2	4,7
12o	5,4	5,1
144	5,7	5,9

Vgl. Abbildungen 29 und 31 auf den Seiten 74 und 75.

e) 5. Versuchsreihe:

Stromdurchflossenes, bräuniertes Cu-Zn-Element umgeben von einem mit CuO und Cu-Reogan angefüllten Mantel aus Glas:

aa) Methodik:

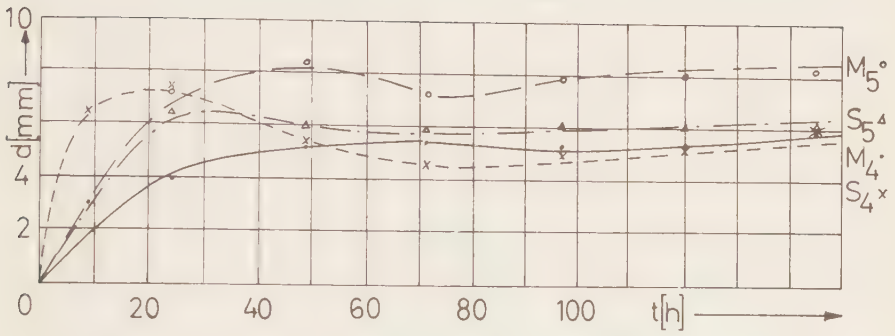
Sie ist dieselbe wie unter III C o).

bb) Meßergebnisse über den Durchmesser d des keimfreien Hofes:

Zeit [h]	d [mm] für MF.(M_5)	d [mm] für B.s.(S_5)
24	7,2	6,3
48	8,2	5,9
72	7,2	5,8
96	7,8	6,o
12o	8,o	6,o
144	8,3	6,o

Vgl. Abbildungen 33 und 36 auf den Seiten 75 und 76.

Abb.15:



cc) Auswertung der 4. und 5. Versuchsreihe:

Wie in der 3. Versuchsreihe treten auch in der 4. und 5. Versuchsreihe durch die punktförmige Öffnung am unteren Ende des in das Medium hineinragenden Glasmantels in der Zeiteinheit nur wenige Ionen auf die Flächeneinheit der Plattenoberfläche hindurch. Das Wachstum der Diffusionshöfe ist über eine Zeit von 6 Tagen (= 144 Stunden) verfolgt worden. Bei den kritischen Zeiten t_v (für Mischflora v=48-96 Stunden; für Bacillus subtilis v=24-72 Stunden) geht der Hofdurchmesser zurück. Nach weiterer Bebrütung für Tage schreitet die Hofbildung kontinuierlich fort. Auffallend ist, daß zu gleichen Zeiten die Werte der 5. Versuchsreihe über denen der 4. und letztere über denen der 3. Versuchsreihe liegen. Die Ursache hierfür ist wohl in der erhöhten, durch die Anwesenheit von Cu-Reogan bedingten Ionophorese von Cu-Kolloiden zu suchen.

Vergleichen wir nun die Tabellen der 3.,4. und 5. Versuchsreihe miteinander , so zeigt das von $Ca(OH)_2$ umgebene Element eine geringste und das von CuO+Cu-Reogan umgebene Element eine größte Desinfektionswirkung auf Bakterien.

f) 6. Versuchsreihe:

Stromdurchflossenes, bräuniertes Cu-Zn-Element umgeben von einem mit CuO und $Ca(OH)_2$ angefüllten Mantel aus Filtrierpapier:

aa) Methodik:

Sie ist dieselbe wie unter III C c).

bb) Meßergebnisse über den Durchmesser d des keimfreien Hofes:

Zeit [h]	d [mm] für MF.(M_6)	d [mm] für B.s.(S_6)
6		19,3
8	11,7	19,3
11	12,1	19,o
25	18,o	18,o
48	19,1	18,2
72	18,4	18,2

g) 7. Versuchsreihe:

Stromdurchflossenes, bräuniertes Cu-Zn-Element umgeben von einem mit CuO und Cu-Reogan angefüllten Mantel aus Filtrierpapier:

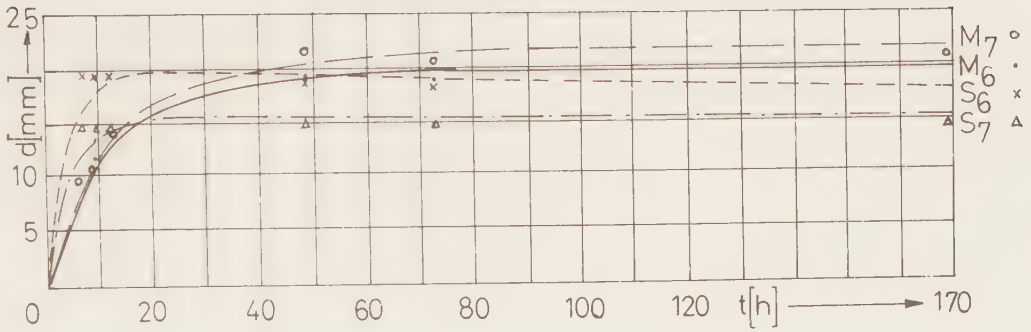
aa) Methodik:

Sie ist dieselbe wie unter III C c).

bb) Meßergebnisse über den Durchmesser d des keimfreien Hofes:

Zeit [h]	d [mm] für MF.(M_7)	d [mm] für B.s.(S_7)
6	9,8	14,5
9	1o,6	14,7
12	13,8	14,2
24		
48	21,3	14,1
72	2o,4	14,3
168	2o,7	14,o

Abb.16:



cc) Auswertung der 6. und 7. Versuchsreihe:

In den beiden vorliegenden Versuchsreihen ist der Glasmantel gegen einen Mantel aus Filtrierpapier eingetauscht worden. Ferner ist des nicht idealen Ergebnisses wegen hinsichtlich der bakteriziden Wirkung ein Versuch mit einem bräunierten, von $Ca(OH)_2$ umgebenen Cu-Zn-Element unterlassen worden. Zwar ist hier die Cu-Ionenproduktion wie auch in der vorangehenden 4. und 5. Versuchsreihe dieselbe, jedoch können jetzt in der Zeiteinheit mehr Cu-Ionen in die Umgebung einwandern, da die von einer porösen Membran (Filtrierpapier) umgebene Stiftelementeinheit nach allen Seiten für Ionen durchgängig ist. Das erklärt das Auftreten der durchweg größeren Diffusionshöfe um die Elemente.

h) 8. Versuchsreihe:

Stromdurchflossenes, bräuniertes Cu-Zn-Element umgeben von einem mit CuO und Cu-Reogan angefüllten Mantel aus Glas:

aa) Methodik:

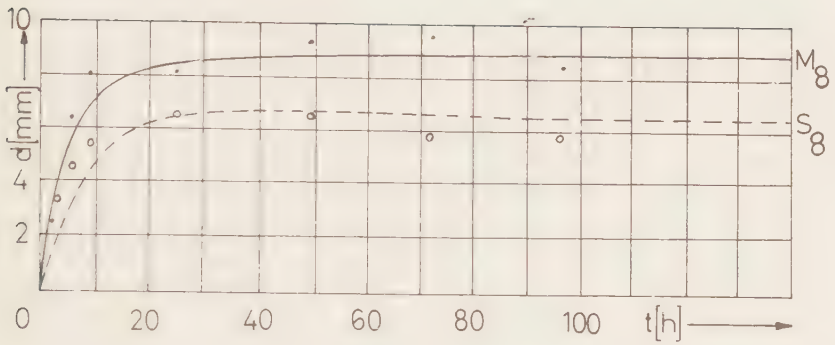
Sie ist dieselbe wie unter III C c), nur mit folgender Abänderung: Vor der Bebrütung der Platten im Brutschrank werden sie im Kühlschrank bei einer Temperatur von 8°C 12 Stunden unterkühlt.

bb) Meßergebnisse über den Durchmesser d des keimfreien Hofes:

Zeit [h] K.Z. + B.Z.	B.Z.	d [mm] für MF.(M_8)	d [mm] für B.s.(S_8)
14	2	2,5	3,1
18	6	6,4	4,4
21	9	8,o	5,4
36	24	8,1	6,4
6o	48	9,3	6,3
84	72	9,5	5,7
1o8	96	8,3	5,5

K.Z.= Kühlzeit , B.Z.= Bebrütungszeit

Abb.17:



Vgl. Abbildungen 34, 38 a), b), 39 a), b), 4o auf den Seiten 76 -78.

i) 9. Versuchsreihe:

Stromdurchflossenes, bräuniertes Cu-Zn-Element umgeben von einem mit CuC und Cu-Reogan angefüllten Mantel aus Filtrierpapier:

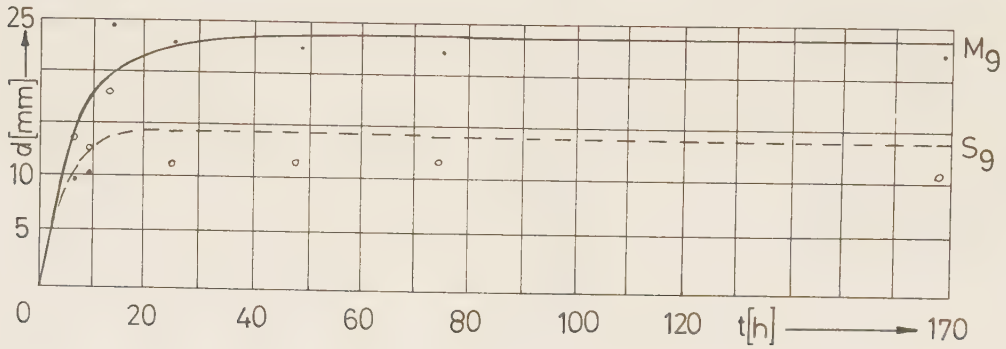
aa) Methodik:

Sie ist dieselbe wie unter III C h). Die Platten werden für 13 Stunden unterkühlt.

bb) Meßergebnisse über den Durchmesser d des keimfreien Hofes:

Zeit K.Z. + B.Z.	[h] B.Z.	d [mm] für MF.(M_9)	d [mm] für B.s.(S_9)
19	6	9,9	13,5
22	9	1o,4	12,3
25	12	24,5	17,9
37	24	23,o	11,2
61	48	22,5	11,6
87	74	22,5	12,o
181	168	22,5	11,5

Abb.18:



cc) Auswertung der 8. und 9. Versuchsreihe:

Durch die Unterkühlung im Eisschrank wird die Keimbildung auf der Platte für eine gewisse Zeit (Stunden) unterbunden. Die Produktion der Cu- und OH-Ionen aber und deren Transport in das Medium findet während dieser Zeit ungestört statt. Beim Sichtbarwerden der ersten Keime ist dann schon ein Überschuß von Cu- bzw. OH-Ionen vorhanden, in deren Wirkungsbereich wegen ihrer Bakterizidie keine Bakterien auftreten können. Das ist die Ursache für die vergrößerte Hofbildung zu gleichen Bebrütungszeiten. Vergleichen wir die beiden Tabellen mit denen der 5. und 7. Versuchsreihe, so wird uns dies anschaulich dargestellt.

Alle bis jetzt angeführten Versuchsreihen sind bei normalen Luftverhältnissen ausgeführt worden. Zur Klärung der Frage, wie sich nun ein in eine Plattenkultur eingebrachtes Stiftelement in CO_2-armer Atmosphäre verhält, geben die vier folgenden Versuchsreihen Aufschluß: Die bräunierten von einem mit Depotpaste angefüllten Mantel umgebenen Stiftelemente werden unter sterilen Bedingungen in Plattenkulturen eingepflanzt. Je solch eine Petrischale wird in eine große, mit Calciumhydroxydpulver ausgestreute Schale gelegt und mittels einer Glasplatte als Deckel mit Paraffin luftdicht verschlossen. Das Calciumhydroxyd $Ca(OH)_2$ hat die Fähigkeit, sich mit dem CO_2 der Luft unter Wasserbildung zu verbinden:

$$Ca(OH)_2 + CO_2 = CaCO_3 + H_2O \quad .$$

Unter dem neuen Gesichtspunkt werden die vier folgenden Versuchsreihen durchgeführt:

k) 1o. Versuchsreihe:

Stromdurchflossenes, bräuniertes Cu-Zn-Element umgeben von einem mit CuO und $Ca(OH)_2$ angefüllten Mantel aus Glas in CO_2-armer Atmosphäre:

aa) Methodik:

Sie ist dieselbe wie unter III C o), jedoch mit der auf der Vorseite beschriebenen Abänderung als Zusatz.

bb) Meßergebnisse über den Durchmesser d des keimfreien Hofes:

Zeit [h]	d [mm] für MF.(M_{1o})	d [mm] für B.s.(S_{1o})
9	7,o	3,3
24	14,2	4,o
48	15,o	3,6
72	14,5	4,o
96	16,1	4,1
12o	16,2	4,2
144	13,o	4,1

Vgl. Abbildungen 3o und 32 auf den Seiten 74 und 75.

l) 11. Versuchsreihe:

Stromdurchflossenes, bräuniertes Cu-Zn-Element umgeben von einem mit CuO und Cu-Reogan angefüllten Mantel aus Glas in CO_2-armer Atmosphäre:

aa) Methodik:

Sie ist dieselbe wie unter III C k).

bb) Meßergebnisse über den Durchmesser d des keimfreien Hofes:

Zeit [h]	d [mm] für MF.(M_{11})	d [mm] für B.s.(S_{11})
6	3,5	6,4
9	7,9	6,6
24	8,4	7,1
48	8,7	7,3
72	8,o	
96	9,o	

m) 12. Versuchsreihe:

Stromdurchflossenes, bräuniertes Cu-Zn-Element umgeben von einem mit CuO und $Ca(OH)_2$ angefüllten Mantel aus Filtrierpapier in CO_2-armer Atmosphäre:

aa) Methodik:

Sie ist dieselbe wie unter III C k).

bb) Meßergebnisse über den Durchmesser d des keimfreien Hofes:

Zeit [h]	d [mm] für MF.(M_{12})	d [mm] für B.s.(S_{12})
6		12,7
8	8,6	12,8
11	9,3	12,3
25	17,8	12,5
48	18,7	12,5
72	18,6	12,3

n) 13. Versuchsreihe:

Stromdurchflossenes, bräuniertes Cu-Zn-Element umgeben von einem mit CuO und Cu-Reogan angefüllten Mantel aus Filtrierpapier in CO_2-armer Atmosphäre:

aa) Methodik:

Sie ist dieselbe wie unter III C k).

bb) Meßergebnisse über den Durchmesser d des keimfreien Hofes:

Zeit [h]	d [mm] für MF.(M_{13})	d [mm] für B.s.(S_{13})
6	6,o	1o,6
1o	5,9	9,9
24	15,1	12,6
48		
96	18,3	1o,8
12o	18,6	1o,7

Abb.19:

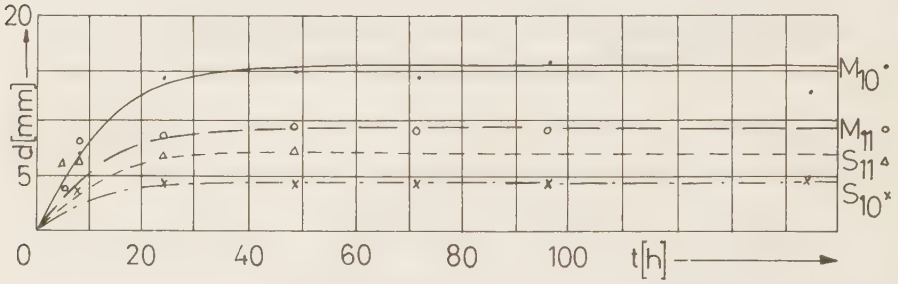
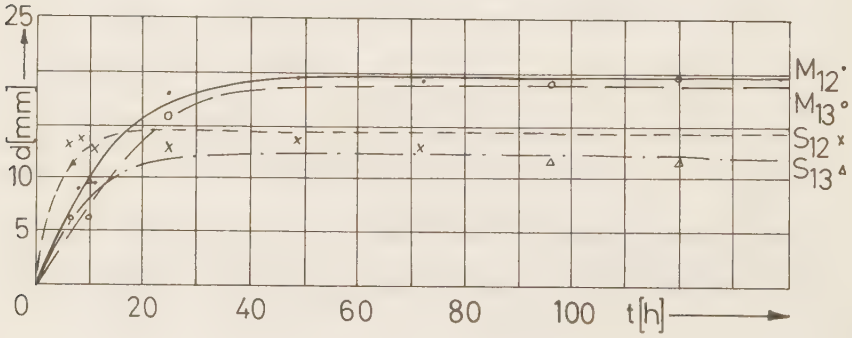


Abb.2o:



oo) Auswertung der 1o., 11., 12. und 13. Versuchsreihe:

Ein Vergleich der vorstehenden Versuchsreihen mit den entsprechenden unter normalen Luftverhältnissen zeigt kein einheitliches Bild. Etwaige Effekte liegen offenbar innerhalb der Streuung.

III. D. Nephelometrische Untersuchungen zum bakteriologischen Effekt des Stiftelements bei gangränösen Zähnen.

In Absohnitt C untersuchten wir das Stiftelement im Plattenverfahren. Interessant und wichtig für die Zahnheilkunde ersoheint uns abschließend das Verhalten eines Stiftelements in einem gangränösen Zahn. Dies wird nun in diesem Absohnitt behandelt. Hierzu sammeln wir eine große Anzahl frisch extrahierter, gangränöser, als Testobjekt dienender Zähne. Mit Hilfe eines Ausstrichpräparates mittels Gramfärbung wird von jedem Zahn das bakteriologische Bild gewonnen. Als Bakterien diagnostizieren wir: Staphylo- und Streptokokken, Spirillen, grampositive Stäbchen und Hefen.

Versuchsanordnung:

In den mit Bakterien verseuchten und mit Depotpaste angefüllten Wurzelkanal eines jeden Zahnes wird unser Stiftelement mit der bräunierten edlen Cu-Elektrode eingeführt und das Kavum des Zahnes mit Paraffin abgedichtet, um den Zutritt von Bakterien in den Wurzelkanal zu unterbinden. Den aus dem Zahn herausragenden Teil der edlen Cu-Elektrode nebst der Lötstelle der beiden das Element bildenden Drähte isolieren wir mit Paraffin. Als Elektrolyt verwenden wir sterile, physiologische Kochsalzlösung (s.S.14), die den Verhältnissen im menschlichen Körper nahe kommt. Mit Hilfe einer Aufhängevorrichtung sorgen wir dafür, daß sowohl der Zahn als auch die unedle Zn-Elektrode in den Elektrolyten eintaucht. Nach einer Bebrütung im Brutschrank bei einer Temperatur von 37°C für die Dauer von 7 Tagen reiben wir jeden Zahn einzeln zwecks äußerer Desinfektion intensiv mit 70%igem Alkohol und Chlorkalk ab. Anschließend eröffnen wir den Zahn unter sterilen Bedingungen im Bereich der Wurzel:

a) Im Bereich der Ramifikation:
   Hier erfolgt Entnahme einer Probe aus einer Bohrung mit einem sterilen Rosenbohrer. Um eine Abtötung der Keime durch Hitzebildung zu vermeiden, wird eine extrem niedere Drehzahl des Bohrers gewählt.
b) In Höhe des unteren Drittels der Wurzel:
   aa) Entnahme einer Probe aus dem Wurzelkanal mittels einer Sonde.
   bb) Zur Feststellung der Desinfektionswirkung des Stiftelements im Dentin Entnahme einer Probe aus der Tiefe des Dentins (bis 2 mm).

Von jedem Zahn werden also drei Proben entnommen, die unter sterilen Bedingungen in drei verschiedene mit steriler Nährlösung (Nr.2 s.S.14) angefüllte Reagenzröhrchen gebracht und anschließend einige Tage (7 Tage) bei einer Temperatur von 37°C bebrütet werden.

Versuchsergebnis:

Zu unserer Überraschung haben wir nach erfolgter Bebrütung festgestellt, daß in den Röhrchen keinerlei Wachstum stattgefunden hat; denn der Trübungsgrad der Röhrchen vor Ansatz des Versuchs und nach seiner Beendigung war derselbe. Mit Hilfe der Gramfärbung hergestellte Ausstrichpräparate und das Ansetzen von Kulturen auf spezifischen Nähragar erhärten das Ergebnis. Dazu muß allerdings bemerkt werden, daß nur Aerobier untersucht worden sind. Da die Abtötung der Bakterien durch OH-Ionen auf einer Proteolyse beruht, dürfte sie auch bei den Anaerobiern eintreten. Cu-Ionen sind als Oxydationskatalysator bekannt. Deshalb dürften Anaerobier eher empfindlicher gegenüber ihnen sein als Aerobier.

IV. Zusammenfassung.

Im experimentellen Teil I wurde eine Reihe von Lösungen auf ihre bakterizide Wirkung gegenüber Bakterien untersucht und im experimentellen Teil II der Wirkung eines Stiftelements gegenübergestellt. Als desinfizierende Lösungen sind Cervin und Cu-Cervin, ferner Kaliumpermanganat-, Gottliebsche und Howesche Lösung verwendet worden. Als Testmikroben wurden Rein- (Bacillus alvei, Bacillus subtilis) und Mischkulturen (Mischflora eines kariösen Zahnes und orale, aerobe Mischflora aus dem Mund) untersucht.

Wir kommen zu folgendem Ergebnis:

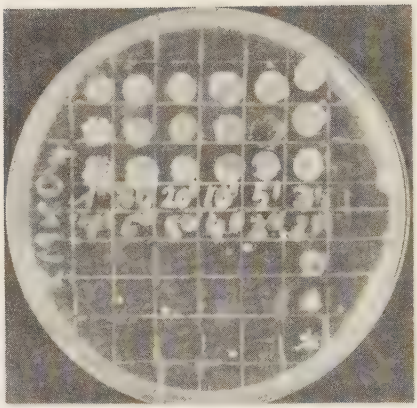
Die starke bakterizide Wirkung des Cervins wird noch von derjenigen der Howeschen Lösung und des Kaliumpermanganats übertroffen. Das Cu-Cervin hat etwa die gleiche Wirkung wie das Cervin. Bei der Gottliebschen Lösung konnten wir keine bakterizide Wirkung feststellen.

Beim Stiftelement erzielten wir durch Verwendung eines Depolarisators und verschiedener Depotpasten eine wesentliche Verstärkung der bisher bekannten Wirkung. Im direkten Versuch am gangränösen Zahn war das Ergebnis durchschlagend: Alle im Wurzelkanal und im benachbarten Dentin vorhandenen aeroben Bakterien und Spirillen waren abgetötet. Versuche mit Anaerobiern wurden nicht durchgeführt. Es wurde aber diskutiert, daß die Wirkung des galvanischen Stiftelements für Anaerobier noch stärker sein dürfte.

Anhang.

Abb.21:

Experimenteller Teil I
A. Versuchsanordnung I
$KMnO_4$



Experimenteller Teil II

Abb.22:

Cu-Draht
Mischflora
in normaler Atmosphäre
direkte Bebrütung
nach 144 Stunden

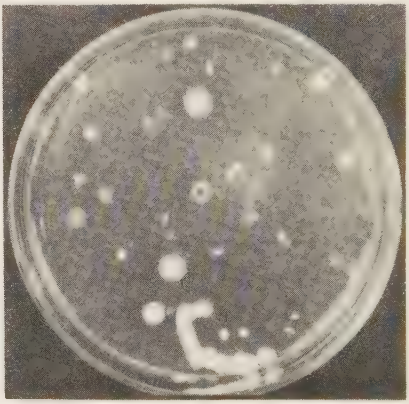


Abb.23:

Cu-Draht
Bacillus subtilis
in normaler Atmosphäre
direkte Bebrütung
nach 144 Stunden

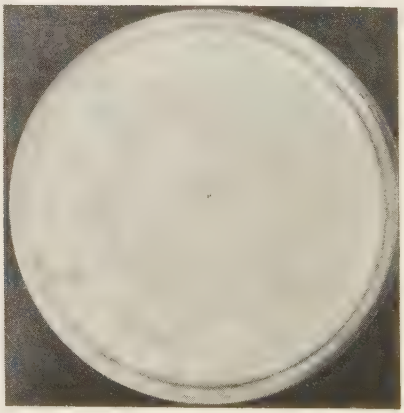


Abb.24 a):

Bräuniertes Element ohne Mantel
Mischflora
in normaler Atmosphäre
direkte Bebrütung
nach 1 Stunde
links Kupferelektrode

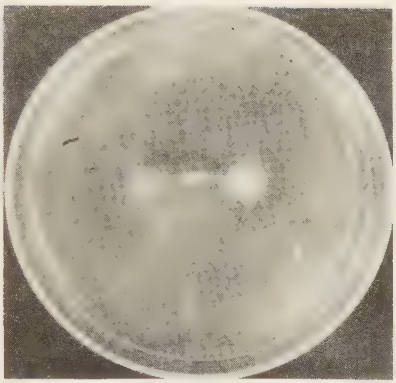


Abb.24 b):

nach 2 Stunden

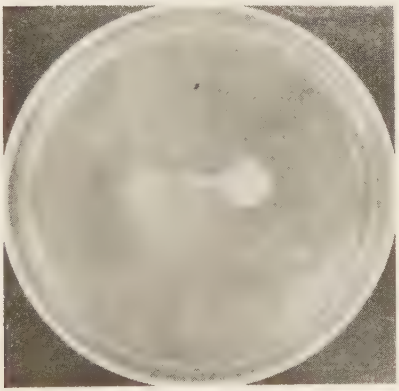


Abb.24 c):

nach 3 Stunden

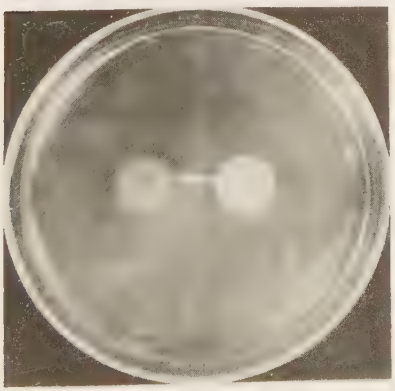


Abb.24 d):

nach 4 Stunden

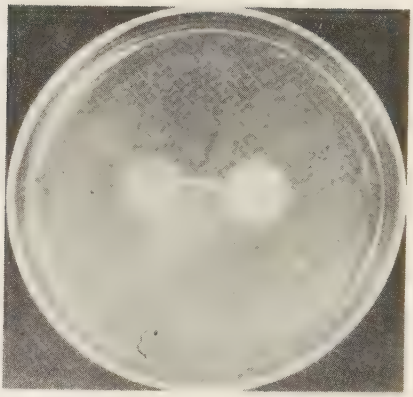


Abb.24 e):

nach 7 Stunden

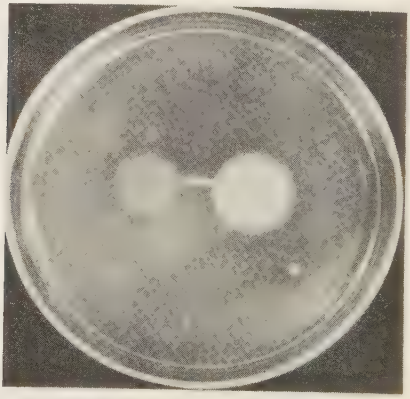


Abb.24 f):

nach 9 Stunden

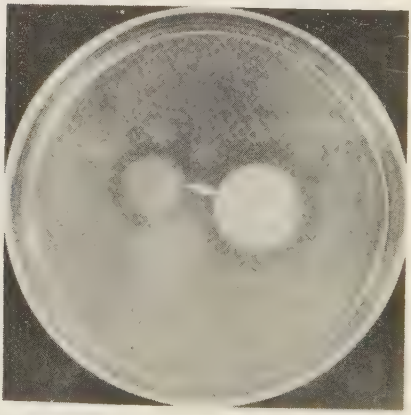


Abb.24 g):

nach 16 Stunden

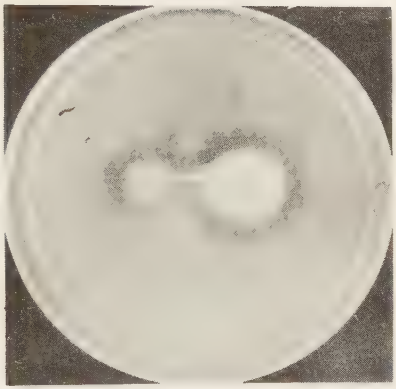


Abb.24 h):

nach 24 Stunden

Abb.24 i):

nach 48 Stunden

Abb.24 k):

nach 72 Stunden

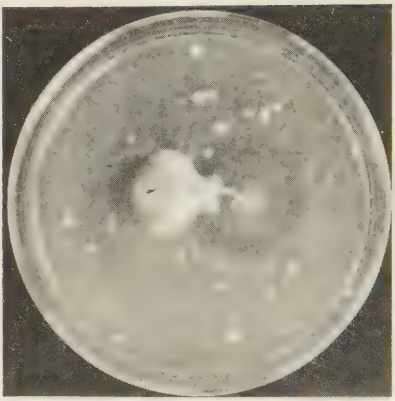


Abb.25 a):

Bräuniertes Element ohne Mantel
Mischflora
in normaler Atmosphäre
direkte Bebrütung
nach 144 Stunden

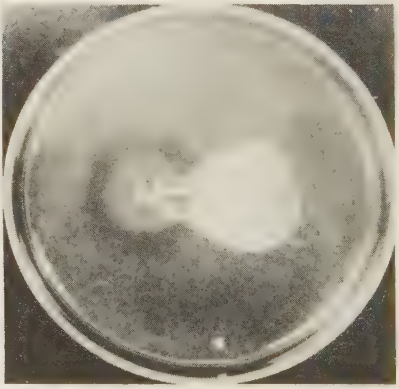


Abb.25 b):

nach 192 Stunden

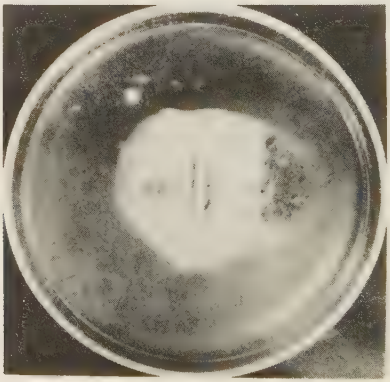


Abb.26 a):

Bräuniertes Element ohne Mantel
Bacillus subtilis
in normaler Atmosphäre
direkte Bebrütung
nach 144 Stunden

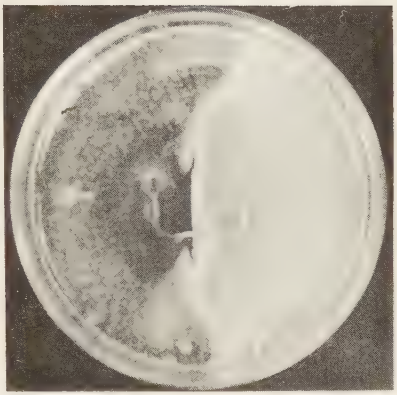
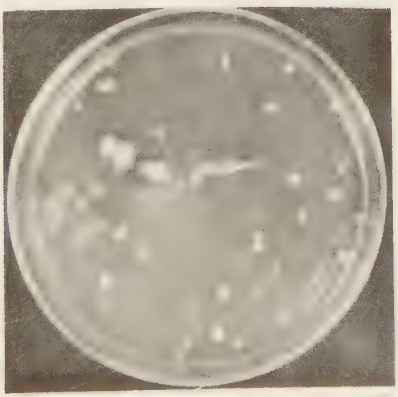


Abb.26 b):

nach 192 Stunden

Abb.27:

Bräuniertes Element
mit Glasmantel: $Ca(OH)_2$
Mischflora
in normaler Atmosphäre
direkte Bebrütung
nach 144 Stunden



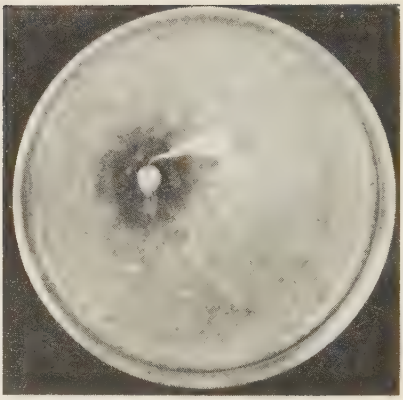


Abb.28:

Bräuniertes Element
mit Glasmantel: $Ca(OH)_2$
Bacillus subtilis
in normaler Atmosphäre
direkte Bebrütung
nach 144 Stunden

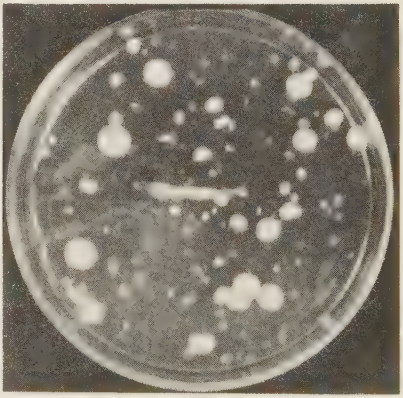


Abb.29:

Bräuniertes Element
mit Glasmantel: $Ca(OH)_2$+CuO
Mischflora
in normaler Atmosphäre
direkte Bebrütung
nach 144 Stunden

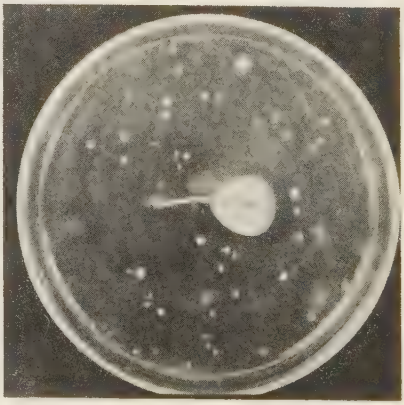


Abb.3o:

Bräuniertes Element
mit Glasmantel: $Ca(OH)_2$+CuO
Mischflora
in CO_2-armer Atmosphäre
direkte Bebrütung
nach 144 Stunden

Abb.31:

Bräuniertes Element
mit Glasmantel: $Ca(OH)_2$+CuO
Bacillus subtilis
in normaler Atmosphäre
direkte Bebrütung
nach 144 Stunden

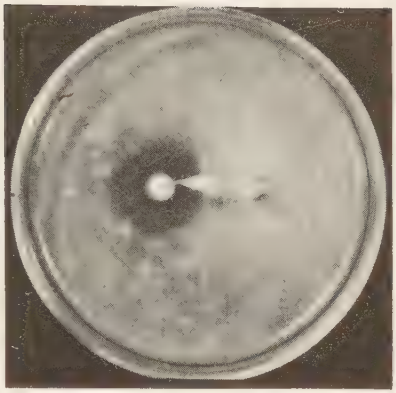


Abb.32:

Bräuniertes Element
mit Glasmantel: $Ca(OH)_2$+CuO
Bacillus subtilis
in CO_2-armer Atmosphäre
direkte Bebrütung
nach 144 Stunden

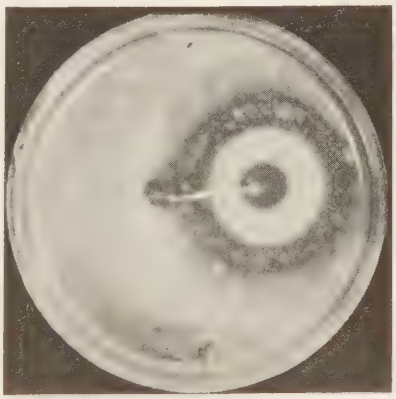


Abb.33:

Bräuniertes Element
mit Glasmantel: Cu-Reogan+CuO
Mischflora
in normaler Atmosphäre
direkte Bebrütung
nach 12o Stunden

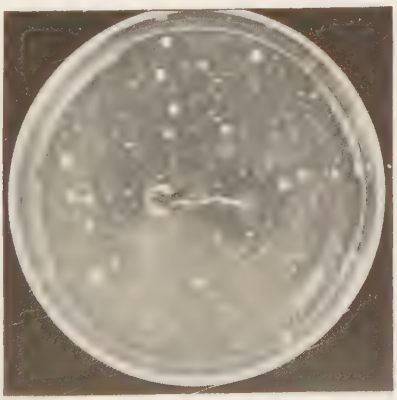


Abb.34:

Bräuniertes Element
mit Glasmantel: Cu-Reogan+CuO
Mischflora
Bebrütung nach 12 Stunden Kühlung
in normaler Atmosphäre
nach 96 Stunden

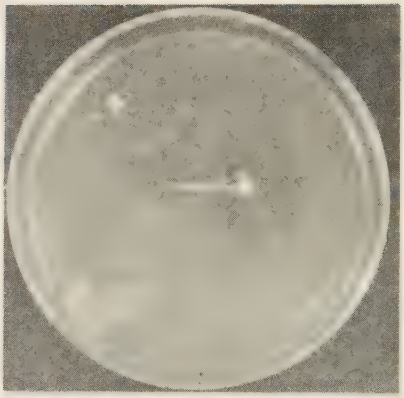


Abb.35:

Bräuniertes Element
mit Glasmantel: Cu-Reogan+CuO
Bacillus subtilis
in CO_2-armer Atmosphäre
Bebrütung nach 12 Stunden Kühlung
nach 2 Stunden

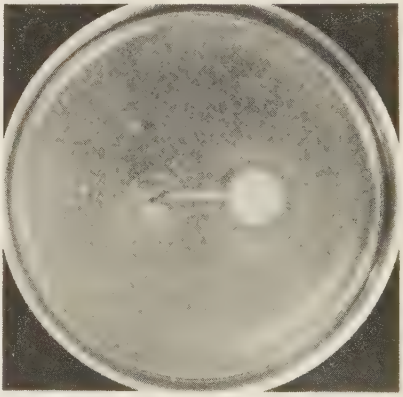


Abb.36:

Bräuniertes Element
mit Glasmantel: Cu-Reogan+CuO
Bacillus subtilis
in normaler Atmosphäre
direkte Bebrütung
nach 144 Stunden

Abb.37:

Bräuniertes Element
mit Glasmantel: Cu-Reogan+CuO
Mischflora
in CO_2-armer Atmosphäre
Bebrütung nach 12 Stunden Kühlung
nach 48 Stunden

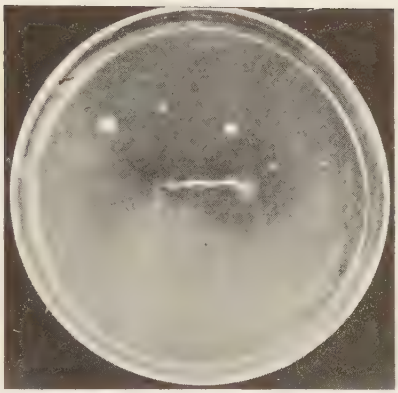


Abb.38 a):

Bräuniertes Element
mit Glasmantel: Cu-Reogan+CuO
Mischflora
in normaler Atmosphäre
Bebrütung nach 12 Stunden Kühlung
nach 24 Stunden

Abb.38 b):

nach 48 Stunden

Abb.39 a):

Bräuniertes Element
mit Glasmantel: Cu-Reogan+CuO
Bacillus subtilis
in normaler Atmosphäre
Bebrütung nach 12 Stunden Kühlung
nach 9 Stunden

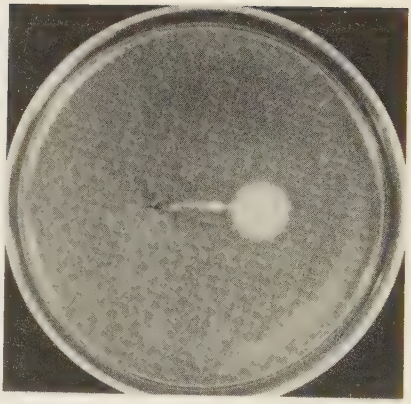


Abb.39 b):

nach 24 Stunden

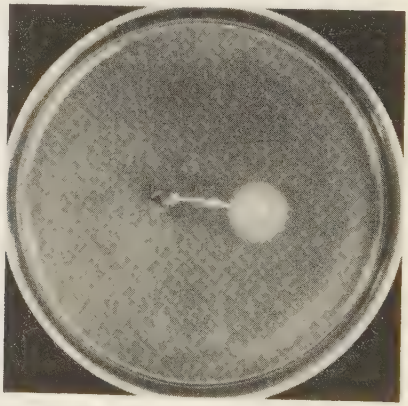


Abb.4o:

Bräuniertes Element
mit Glasmantel: Cu-Reogan+CuO
Bacillus subtilis
in normaler Atmosphäre
Bebrütung nach 12 Stunden Kühlung
nach 72 Stunden

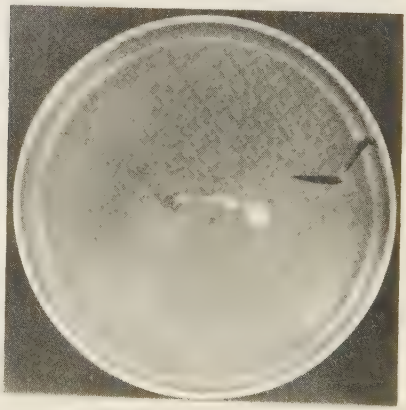


Abb.41:

Bräuniertes Element
mit Papiermantel
Mischflora

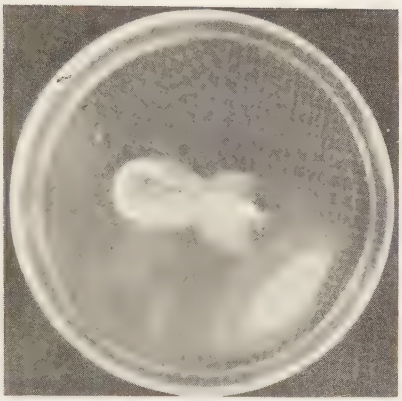


Abb.42:

Bräuniertes Element
mit Papiermantel
Mischflora

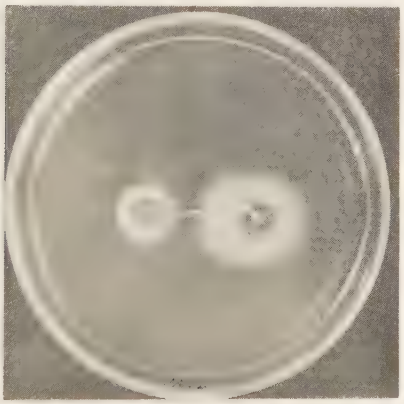


Abb.43:

Bräuniertes Element
mit Papiermantel
Mischflora

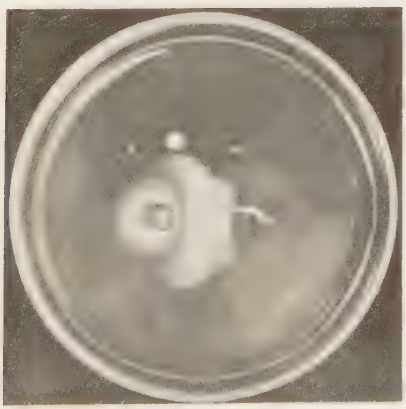


Abb.44:

Bräuniertes Element
mit Papiermantel
Bacillus subtilis

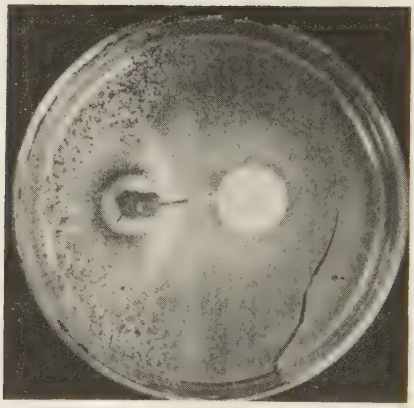


Abb.45:

Bräuniertes Element
mit Papiermantel
Bacillus subtilis

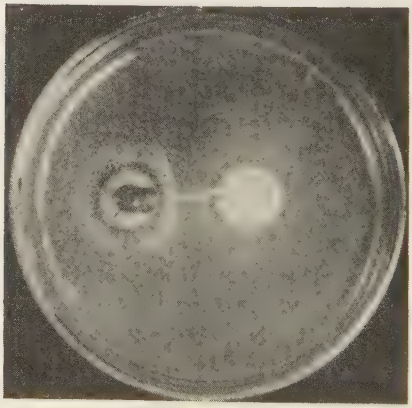
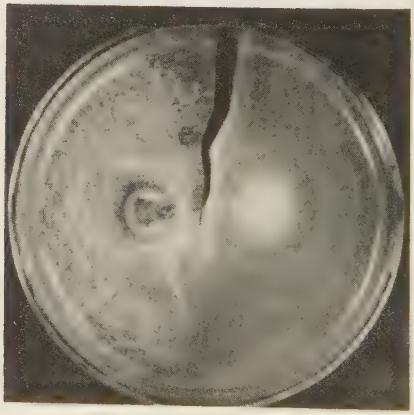


Abb.46:

Bräuniertes Element
mit Papiermantel
Bacillus subtilis



Literaturnachweis.

1) R e b e l , H. H.	Lehrbuch der konservierenden Zahnheilkunde, 2. Aufl. München 195o
2) F i s c h e r , G.	ZR. 1952, Heft 18
3) K n a p p w o s t , A.	Zahnärztliche Praxis, VI. Jahrgang Nr. 2o (1955)
4) K n a p p w o s t , A.	DZZ. 8, Heft 7, S. 359 (1953)
5) K n a p p w o s t , A.	DZZ. 9, Heft 6, S. 325 (1954)
6) B e r n a r d , P.	Ionophorese La Physiotechnic L'Odontologie 1947, H. 3
7) K e l l n e r , E.	Z. Stomat. 1937, S. 919
8) K n a p p w o s t , A.	DZZ. 6, Heft 2, S. 69 (1951)
9) O r e i b a s i o s	Collecta medicinalia
1o) N ä g e l i , C. v.	Neue Denkschrift der allgemeinen Schweizer Gesellschaft für die gesamte Naturwissenschaft 33,43, 1893
11) E f f i n g e r , A.	DZZ. 1953, Heft 4, S. 92
12) N i c o l e , R.	Helvetia Med. Acta, Series B.1947, Supplement III, S. 12
13) K o l l e - H e t s c h	Bakteriologie und Infektionskrankheiten, S. 195
14) M a i e r, H.	Inauguraldissertation Tübingen 1956
15) E i s e n m a n n , A.	Inauguraldissertation Tübingen 1953
16) W e i k , H.	Inauguraldissertation Tübingen 195o

Lebenslauf.

Als Tochter des Studienrats Albert Fritz und seiner Ehefrau Marta, geb. Bäurle, wurde ich am 7. Oktober 1926 zu Mönchengladbach geboren.

Nach vierjährigem Volksschulbesuch in Mönchengladbach und in Prüm/Eifel besuchte ich die Oberschulen für Jungen in Prüm/Eifel, Gerolstein/Eifel und nach der Evakuierung im Jahre 1944 nach Unterbrechung von einem Jahr in Tübingen/Neckar. An der Kepler-Oberschule für Jungen zu Tübingen legte ich im Jahre 1946 die Reifeprüfung ab.

Ab Wintersemester 1947/48 studierte ich an der Universität Tübingen fünf Semester Mathematik und Physik. Nach einer kurzen Unterbrechung begann ich dann das Studium der Zahnheilkunde . Die Zahnärztliche Vorprüfung bestand ich im Jahre 1953 und die Zahnärztliche Prüfung legte ich am 21. Dezember 1956 ab. Seit Mai 1957 stehe ich im Beruf.

Photodruck und Buchbinderarbeit der Photocopie GmbH., Stuttgart